

令和7年度厚生労働行政推進調査事業費
食品の安全確保推進研究事業

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究

令和7年度 総括研究年度終了報告書

研究代表者 中原剛士

令和7（2025）年4月

令和7年度 総括研究年度終了報告書

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究

令和 7 年度研究班構成員氏名

研究代表者

中原 剛士 (九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授)

研究分担者

石井 祐次 (九州大学大学院薬学研究院細胞生物薬学分野 教授)

井上 大輔 (長崎大学病院眼科 助教)

梅野 淳嗣 (九州大学病院消化管内科 講師)

太田 千穂 (中村学園大学栄養科学部 准教授)

緒方 英紀 (九州大学病脳神経内科 助教)

岡本 勇 (九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野 教授)

小野塚大介 (大阪大学大学院医学系研究科罹患後症状治療学 特任准教授)

貝沼茂三郎 (富山大学学術研究部医学系和漢診療学講座 教授)

白石 博昭 (福岡県保健環境研究所 所長)

加藤 聖子 (九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学分野 教授)

川崎 五郎 (長崎大学口腔腫瘍治療学分野 准教授)

申 敏哲 (熊本保健科学大学リハビリテーション学科 教授)

園田 康平 (九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授)

辻 学 (九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 准教授)

辻 博 (北九州若杉病院 西日本総合医学研究所 所長)

藤原 稔史 (九州大学病院整形外科 助教)

戸高 尊 (公益財団法人北九州生活科学センター 課長)

友清 淳 (北海道大学歯科保存学教室 教授)

冬野 洋子 (九州大学病院皮膚科 講師)

前田 英史 (九州大学大学院歯学研究院歯科保存学研究分野 教授)

室田 浩之 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授)

山村 和彦 (九州大学病院皮膚科 講師)

(五十音順)

研究協力者

芦田 美輪	(九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教)
市村 清隆	(公益財団法人北九州生活科学センター 理事長)
上原口奈美	(公益財団法人北九州生活科学センター 主任)
緒方 久修	(九州大学大学院医学研究院医学教育学部門 特任准教授)
工藤 愛透翔	(福岡県保健環境研究所生活化学課 技師)
熊谷 博史	(福岡県保健環境研究所企画情報管理課 課長)
柿本 理沙	(公益財団法人北九州生活科学センター 検査員)
古賀 信幸	(中村学園大学 名誉教授)
酒谷 圭一	(福岡県保健環境研究所生活化学課 研究員)
佐藤 環	(福岡県保健環境研究所計測技術課 研究員)
重富 敬太	(福岡県保健環境研究所生活化学課 主任技師)
新谷 依子	(福岡県保健環境研究所計測技術生活化学課 研究員)
杉井 英樹	(九州大学歯科保存学研究分野 助教)
高尾 佳子	(福岡県保健環境研究所企画情報管理課 専門研究員)
高野 智嗣	(九州大学病院呼吸器内科 助教)
坪内 和哉	(九州大学病院呼吸器内科 診療講師)
飛石 和大	(福岡県保健環境研究所生活化学科 専門研究員)
中村 麻子	(福岡県保健環境研究所生活化学科 研究員)
中村 優子	(九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 看護師)
納富 昭司	(九州大学医学研究院眼科学分野 助教)
濱田 律雄	(九州大学環境発達医学研究センター 特任助教)
平川 周作	(福岡県保健環境研究所水質課 専門研究員)
広瀬 勇氣	(公益財団法人北九州生活科学センター 検査員)
堀 就英	(福岡県保健環境研究所生活化学課 課長)
諸隈 誠一	(九州大学大学院医学研究院保険学部門 教授)
吉富 泉	(諫早総合病院歯科口腔外科 医長)
吉村 恵	(医療法人社団温故会直方中村病院)

(五十音順)

目 次

I. 総括研究年度終了報告書

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と その治療法の開発等に関する研究	1
研究代表者 中原 剛士	

II. 分担研究年度終了報告

01. 油症患者の追跡調査	12
研究分担者 小野塚 大介	
研究協力者 中村 優子, 辻 学, 中原 剛士	
02. 油症検診受診者の血液中 PCDF 等 (ダイオキシン類) 濃度実態調査	14
研究分担者 白石 博昭	
研究協力者 堀 就英, 飛石 和太, 中村 麻子, 新谷 依子, 酒谷 圭一, 重富 敬太, 工藤 愛透翔, 平川 周作, 佐藤 環, 戸高 尊, 広瀬 勇気	
03. 油症検診データを用いた基礎的解析	26
研究分担者 白石 博昭	
研究協力者 高尾 佳子, 熊谷 博史	
04. 油症患者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル異性体分析における ナローボアカラムの検討	33
研究分担者 戸高 尊	
研究協力者 上原口 奈美, 広瀬 勇気, 柿本理沙, 市村 清隆	
05. カネミ油症患者へのオンライン診療確立ならびに漢方動画視聴率向上に関する研究	36
研究分担者 貝沼 茂三郎	
06. 油症暴露による継世代健康影響に関する研究 -油症 2 世、3 世における婦人科関連症状-	39
研究分担者 加藤 聖子	
研究協力者 諸隈誠一, 濱田 律雄	
07. 油症における Interleukin-1 β の検討	45
研究分担者 辻 博	
研究協力者 緒方久修	
08. 気道上皮細胞における Signal regulatory protein alpha (SIRP α) の役割の検討	51
研究分担者 岡本 勇	
研究協力者 坪内 和哉, 高野 智嗣	

09. フェロトシス抑制を介した潰瘍性大腸炎治療標的の解明に関する研究……………	54
研究分担者 梅野 淳嗣	
10. 油症検診における眼病変の追跡調査……………	56
研究分担者 園田 康平	
研究協力者 納富昭司	
11. 油症検診受診者における角膜上皮障害……………	57
研究分担者 井上 大輔	
12. ポリ塩化ビフェニルとインターロイキン 8 (IL-8) の関係についての文献的考察 ……	59
研究分担者 緒方 英紀	
13. ベンゾピレン中毒ラットに対する芍薬甘草湯と温熱療法の併用効果検討……………	62
研究分担者 申 敏哲	
研究協力者 吉村 恵	
14. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin による出生児の性未成熟の機構解析： 脳の性分化と生殖腺の発達に対する芳香族炭化水素受容体の寄与……………	70
研究分担者 石井 祐次	
15. ヒト末梢感覚神経における AHR シグナルを介した皮膚炎の制御機構の解明……………	83
研究分担者 山村 和彦	
16. 脂漏部位からの皮膚ガス分析による非侵襲的ダイオキシン評価……………	89
研究分担者 室田 浩之	
研究協力者 芦田 美輪	
17. PDE4 阻害と AhR シグナルのクロストークによる皮膚免疫の制御……………	93
研究分担者 辻 学	
18. 膠原病の皮疹形成機序における AHR の役割に関する研究……………	97
研究分担者 冬野 洋子	
19. 高残留性 PCB138 のラットにおける in vivo 代謝に関する研究……………	98
研究分担者 太田 千穂	
研究協力者 古賀 信幸	
20. ダイオキシン誘導性セレン結合性タンパク質 1 (SelenBP1) ：ヒト由来細胞を用いた検討……………	107
研究分担者 石井 祐次	
21. 芳香族炭化水素受容体を介した骨代謝制御機構に関する研究……………	124
研究分担者 藤原 稔史	
22. 油症患者における顎口腔機能について……………	126
研究分担者 川崎 五郎, 吉富 泉	

23. Tenascin C がヒト歯根膜細胞の骨/セメント芽細胞様分化に及ぼす影響	129
研究分担者 前田 英史	
研究分担者 杉井 英樹	
24. ダイオキシン類による MMP12 発現上昇と間葉—上皮転換に関する研究	133
研究分担者 友清 淳	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	136

総括研究報告書

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と その治療法の開発等に関する研究

研究代表者 中原剛士 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授

研究要旨

【背景】油症は1968年に福岡・長崎を中心とする西日本で発生した、PCBやダイオキシン類の摂取による混合中毒である。ダイオキシン類の生体への慢性影響については十分に解明されていない。油症研究班（以下、油症班）は発生当時より検診を行い、直接曝露した患者、継世代への影響を追跡し、分析を行っている。

【研究目的】PCB類・ダイオキシン類の生体への影響、生体内動態を把握し、ダイオキシン類の毒性を緩和する治療法・対処法を見出すことである。

【研究成果】

臨床的追跡調査・疫学研究

（１）油症患者の支援と治療研究の推進

①健康実態調査、一斉検診の実施、検診結果を集積した患者データベースを更新した。令和6年度全国油症検診の受診者の検診結果をデータベースに入力した。

②油症認定患者の長期死亡リスクについて再評価を行っている。油症認定患者の生存・死亡情報を更新した。

（２）臨床的追跡調査・疫学研究

①2024年度の全国油症一斉検診において検診票の電子化・集計を行い、受診者552名の傾向を解析した。内科・皮膚科・眼科・歯科の有所見率はいずれも近年と同様であり、顕著な変化は認められなかった。

②油症患者1,664名を対象に追跡調査を更新し、長期死亡リスクを再評価した。2026年2月時点で生存781名（46.9%）、死亡808名（48.6%）、不明75名（4.5%）であり、生存期間中央値は54.6年（95% CI: 52.9-56.5）であった。

③油症患者血中PCQ異性体分析において、電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ（GC-ECD）を用いた測定法の改良を検討した。ナローボアカラムによる分離能・感度向上は得られなかったが、注入口ライナーの条件最適化により従来法を上回る高感度分析法の確立に成功した。

④2024年度は認定患者72名、未認定者169名を解析した。認定患者では2,3,4,7,8-PeCDFおよびTotal TEQが未認定者より高値を示した。精度管理では国内5機関間で測定値の一致が確認され、分析の妥当性が担保された。PCB118の代謝物についてはCYP2A6を介した生成が示唆されるものの、標準品との比較では同定には至らなかった。現在、2025年度対象者229名の測定・解析を継続中である。

⑤油症患者由来の2世・3世女性114名を対象に婦人科関連症状を解析した。初経年齢および閉経年齢は一般集団と同程度であったが、月経不順、PCOS、子宮内膜症は高頻度で認められた。不妊治療歴も一定割合で認められ、早産および低出生体重の頻度は一般集団よりやや高い傾向を示した。

⑥油症患者における角膜上皮障害について検討した結果、血中PeCDF濃度と涙液層破壊時間との関連は認められなかった。

⑦油症患者 176 名を対象に顎口腔機能を評価した。疼痛・違和感などの自覚症状は 19 名、触診での疼痛は 13 名、関節雑音は 46 名に認められ、開口障害は 5 名であった。いずれも軽度であり、咀嚼障害や摂食困難などの重篤な機能障害は認められなかった。

⑧脂漏部位（額）からの皮膚ガス分析による非侵襲的ダイオキシン評価を検討した。採取媒体の比較によりキムワイプが最も高感度かつ低ノイズであった。患者皮膚ガスの解析では、一部成分が血中 PeCDF 濃度と相関する可能性が示唆され、非侵襲的評価法としての有用性が示された。

⑨PCB と IL-8 の関連について文献的検討を行った結果、PCB 曝露により IL-8 発現が上昇することが多数報告されていた。これらより、IL-8 は油症におけるポリニューロパチーの病態解明に寄与する指標となる可能性が示唆された。

⑩2025 年度福岡県油症検診受診者 214 例において IL-1 β を測定した結果、上昇例は 18 例に認められた。しかしながら、油症患者と未認定者間で出現率に差はなく、また血中 PCB 濃度別の比較でも IL-1 β 上昇頻度に有意差は認められなかった。

（3）基礎的研究

①ヒト気道上皮において SIRT6 は基底細胞に発現し、特に基底膜側で強く認められた。SIRT6 は EGFR シグナルを介して気道上皮再生に重要な役割を担い、油症による気道損傷に対する新規治療標的となる可能性が示された。

②PCB138 は PCB140 より代謝されにくく、肝臓への蓄積が高かった。PCB の代謝性は肝蓄積性と関連することが示唆された。

③ヒト表皮細胞において、PDE4 阻害薬ジファミラストと AhR モジュレーターであるタピナロフの相互作用を解析した。両薬剤の併用によりフィラグリンおよびロリクリンの発現が相乗的に増強された。さらに、ジファミラストは CYP1A1 発現を抑制し、タピナロフの代謝を遅延させることで薬効の持続・増強に寄与する可能性が示唆された。

④ヒト SELENBP1 の機能解析を行い、C 末端領域は MTO 活性に必須である一方、脂質代謝関連遺伝子（PPAR α 、RXR α ）の発現調節には必須でないことが示唆された。さらに、セレン結合に関与すると考えられる Cys57 および CXXC モチーフの変異により脂質代謝関連遺伝子の発現が低下し、これら部位でのセレン結合が脂質代謝調節機能に重要である可能性が示された。

⑤TCDD 曝露モデルと AHR 欠損ラットを用い胎児期 AHR 機能を解析した。精巣では HDAC 発現変動からエピジェネティック制御への関与が示唆され、肝臓では CYP3A などが AHR 依存的に誘導された。AHR は胎児期に臓器特異的な発達制御に関与する可能性が示された。

⑥ベンゾピレン誘発末梢神経障害モデルにおいて、温熱療法および芍薬甘草湯の併用効果を検討した。ベンゾピレンにより A β 線維機能低下、CYP1A1 発現増加、MAG 低下、酸化ストレス増加が認められたが、温熱療法単独および併用によりこれらは抑制された。

⑦ダイオキシン類による AhR シグナルの活性化が、MMP12 発現を上昇させるとともに歯根膜細胞の上皮細胞転換を誘導する可能性が明らかとなった。

⑧AhR リガンドである青黛は、ミトコンドリア機能の改善、GSH 増加、脂質過酸化抑制を介してフェロトーシスを抑制し、AhR シグナル異常を背景とする病態に

対する新規治療戦略の可能性が示された。

⑨AhR は骨代謝を制御する破骨細胞と骨芽細胞の分化に従い発現が増加し、ベンゾピレンはこれらの分化を阻害した。

⑩膠原病様ケラチノサイトモデルに対する AHR リガンドの抗炎症作用とその機序を解明した。

⑪AHR シグナルを介した末梢神経と皮膚炎の関連を検討し、ヒト角化細胞の RNA-seq 解析により AHR リガンド刺激で SMN2 発現が共通して上昇することを確認した。さらに油症患者血清では SMN2 濃度が男性で特異的に上昇したが、PeCDF 濃度や神経症状との相関は認められなかった。特に男性油症患者に着目して SMN2 の機能について今後探究していく。

A. 研究目的

PCB とダイオキシンおよびダイオキシン類似化合物（以下、ダイオキシン類）の混合中毒である油症が発生して 50 年以上が経過した。ダイオキシン類は人類への影響が懸念される、環境汚染物質でもある。患者生体内に長期間残存するダイオキシン類がどのような影響を及ぼしているかについては明らかでない。油症研究の目的は、ダイオキシン類が生体に及ぼす慢性影響を把握し、患者に残存する症状を緩和する方法を開発することにある。

（倫理面に対する配慮）

研究によって知りえた事実については患者のプライバシーに十分配慮しながら、公表可能なものは極力公表する。

B. 研究方法

I. 班長が担当する研究

1. 班長は、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター（以下、油症センター）センター長を兼任する。
2. 班の総括と研究班会議開催
3. 油症検診の実施（各自治体に委託）と検診結果の全国集計
4. 油症相談員・相談支援員制度
健康の問題を含め、様々な不安を抱く患者の相談を行う。また、患者に対して既往歴、

症状、生活習慣の聞き取りまたは文書による調査を行う。

4. 油症ダイオキシン研究診療センターとの協力体制の充実

油症ダイオキシン研究診療センターを中心に、九州大学病院の各診療科（医科・歯科）油症診療ネットワークを構築している。診療科の担当医師について確認を行なった。

5. 死因・次世代調査

ダイオキシンの生体への影響、次世代への影響を検証する。

6. 台湾油症との情報交換

これまでの研究を通じて得た知識を相補的に交換し、互いの患者の健康増進につとめる。また、これからの研究の方向性を議論し、よりよい研究を目指す。

7. 検診体制の見直し

患者の症状の変遷と高齢化にあわせて検診科目、検診項目を見直す。

8. 臨床試験の実施

油症患者の様々な症状を軽減するために漢方薬の臨床試験を施行する。

9. 油症対策委員会の開催

患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表および次年度の実態調査票の改正点の検討、医療者向けのパンフレット案の検討を行う。

10. 情報の提供

本研究を通じて得られた知識で、情報公開可能なものについては極力情報公開につとめる。パンフレット、ホームページ、油

症ニュース、あるいは書面で公表し、油症対策委員会で患者代表者に説明を行う。

II. 九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班が行う調査、治療および研究

1. 検診を実施し、油症患者の皮膚科、眼科、内科、歯科症状について詳細な診察を行い、年次的な推移を検討する。血液検査、尿検査、骨密度検査、神経学的検査を行う。検査結果は他覚的統計手法などを用いて統計学的に解析し、経年変化の傾向について調査する。

2. 油症患者体内に残存する PCB、PCQ やダイオキシン類の生体内動態を把握するために、血中濃度分析を行う。患者の症状、検査結果にいかに関与しているかについても分析、検討する。

3. 九州大学大学院医学研究院附属総合コホートセンターが一般住民対象に行う環境調査に協力し、一般対照群と患者の疾患、症状、血液中ダイオキシン類濃度を比較し、ダイオキシン類の慢性影響を明確にする。

4. 各疾患バイオマーカー値の測定および保存血清バンクの充実

基礎研究・臨床研究の結果に基づいて、油症の疾患活動性に相関する有用なバイオマーカーとなりうるかを評価するため、保存血清を保存する。

5. 油症の継世代に及ぼす影響に関する検討を行うため、コホートの作成に取り掛かる。

6. PCB やダイオキシン類の体内動態を明らかにする。

7. 基礎的研究を行い、PCB やダイオキシン類の慢性毒性の機序の解明およびダイオキシン類の毒性を緩和しうる薬剤の探索を行う。

C. 結果および考察

I. 油症患者の支援と治療研究の推進

1. 油症相談員・相談支援員制度

高齢化や社会的偏見により検診を受診していない患者の健康状態や近況を把握し、様々な相談を受けるために、2002 年に患者の集中する福岡県、長崎県、広島県で油

症相談員事業を開始した。2016 年には、相談支援員制度を施行した。定期的に研修会を開催し、情報共有に努めている。

2. 情報の提示

パンフレットの更新作成、ホームページ、あるいは直接書面にて研究内容を患者に伝達した。さらに患者への情報提供のために、油症新聞を定期的に発行した。また、これまでの研究内容をひろく知らしめることを目的として、

油症の検診と治療の手引きは、
[http://www.kyudai-](http://www.kyudai-derm.org/yusho/index.html)

[derm.org/yusho/index.html](http://www.kyudai-derm.org/yusho/index.html) に、

油症の現況と治療の手引きは、

[http://www.kyudai-](http://www.kyudai-derm.org/member/index.html)

[derm.org/member/index.html](http://www.kyudai-derm.org/member/index.html) に、

カネミ油症の手引きは、

[http://www.kyudai-](http://www.kyudai-derm.org/kanemi/index.html)

[derm.org/kanemi/index.html](http://www.kyudai-derm.org/kanemi/index.html) に、

油症研究 - 30 年の歩み - は、

[http://www.kyudai-](http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html)

[derm.org/yusho_kenkyu/index.html](http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html) に

油症研究 II 治療と研究の最前線は、

[http://www.kyudai-](http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index02.html)

[derm.org/yusho_kenkyu/index02.html](http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index02.html) に、

1年おきに福岡医学雑誌の特集号として発行している油症研究報告集は

[http://www.kyudai-](http://www.kyudai-derm.org/fukuoka_acta_medica/index.html)

[derm.org/fukuoka_acta_medica/index.html](http://www.kyudai-derm.org/fukuoka_acta_medica/index.html) に

厚生労働省科学研究費補助金による研究結果は

[http://www.kyudai-](http://www.kyudai-derm.org/kakenhoukoku/index.html)

[derm.org/kakenhoukoku/index.html](http://www.kyudai-derm.org/kakenhoukoku/index.html) にそれぞれ掲載している。

3. 患者の実態把握と情報発信に関する研究

今年度の油症研究班の成果を患者団体に公表し、意見、要望を伺った。

4. ダイオキシン毒性を軽減するための食事・運動・漢方セミナーや講演会の実施
漢方セミナー（漢方薬による治療について）

の動画を油症ダイオキシン研究診療センターのHPに公開している。

5. 油症対策委員会

厚生労働省および患者代表からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の共有と次世代調査の進捗について検討した。令和6年度は197名が調査に参加し、103名が検診を受診した。解析の結果、親のPCDF血中濃度と次世代の生活習慣病や歯科症状との関連は認められなかった一方、喫煙歴と歯肉症状との関連が示された。先天性異常についても現時点で油症との明確な関連は確認されていない。さらに、歯牙異常や婦人科症状に関する調査の拡充が提案された。

6. 油症患者の死因に関する研究

油症認定患者の生存情報および死亡情報をアップデートし、死亡リスクの再評価を行うことを目的として、油症認定患者を対象とした追跡調査を実施した。

7. 油症検診データを用いた基礎的解析

全国油症一斉検診受診者の傾向把握を目的として、2024年度の検診で得られた検診票を収集・電子化し、集計を行った。検診受診者数は552人（認定及び同居家族認定383人、未認定169人）であった。内科・皮膚科・眼科・歯科検診の有所見率は、近年の傾向と同様であり、大きな変化は認められなかった。

8. 油症患者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル異性体分析におけるナローボアカラムの検討

油症患者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)の分析は、電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ(GC-ECD)を用いて行っている。前年度、通常用いるカラムより径の細いナローボアカラムを用いて、PCQ異性体の分離および測定感度の改善に関して検討を行ったが、従来法よりも高精度および高感度な分析法を確立するまでに至らなかった。今年度も、ナローボアカ

ラムを用いて検討を行ったが、期待される結果は得られなかったため、従来使用していたカラムを用いて、注入口部のライナーの比較検討を行った。その結果、従来法よりも高感度な分析法を確立した。

II. 臨床的追跡調査・疫学研究

1. 油症検診の追跡調査

i) 油症患者の追跡調査

油症患者の長期死亡リスクについて再評価を行うことを目的として、追跡期間を延長し、油症患者の生存・死亡情報をアップデートした。その結果、追跡調査の対象者1,664名のうち、2026年2月28日時点で生存の確認ができた者は781名(46.9%)、死亡の確認ができた者は808名(48.6%)、生死の確認ができなかった者は75名(4.5%)であった。また、生存期間中央値は、54.6年(95% CI: 52.9-56.5)であった。

ii) 油症検診受診者の血液中PCDF等(ダイオキシン類)濃度実態調査

全国油症一斉検診の受診者について血液中のPCDF等(ダイオキシン類)の濃度を継続的に測定している。2024年度に測定を行った認定患者72名と未認定者169名について結果集計を行った。認定患者の2,3,4,7,8-PeCDF濃度は平均27 pg/g-fatとなり、2,3,7,8-TeCDD毒性等価係数(WHO-2006)を用いて毒性等量(TEQ)に換算した総ダイオキシン類(Total TEQ)濃度は平均25 pg-TEQ/g-fatであった。未認定者の2,3,4,7,8-PeCDF濃度は平均5.4 pg/g-fat、Total TEQの平均濃度は9.9 pg-TEQ/g-fatであった。

血液中ダイオキシン類の微量分析技術を用い2024年度に実施した血液中ダイオキシン類分析精度管理について、データ解析を行った。その結果、当所を含む国内5機関の定量値は概ね一致しており、各機関で血液中ダイオキシン類の定量分析が適切に実施されていることが確認された。

これまでに本分担研究では、油症患者において特徴的に低い存在割合を示す2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl

(PCB118) について、ヒトチトクローム (CYP) 2A6 を介した代謝物の生成を確認している。また昨年度までに *in vitro* 代謝試験による再試験と実験操作の改良によって、代謝物の生成を示すピークを検出したが、物質の同定はできていなかった。本年度は新たに入手した水酸化 PCB 標準品 (6-OH-CB77) を測定し、クロマトグラム上で未同定のピークと比較した。この結果、両者の保持時間は一致せず、代謝産物の同定には至らなかった。

現在、2025 年度の全国油症一斉検診の受診者のうち、血液中ダイオキシン類の測定対象者 (229 名) について測定及び解析作業を継続している。

2. 油症検診における眼病変の追跡調査
令和 7 年度油症患者の眼症状の発生およびその経過を調査した。

3. 油症検診受診者における角膜上皮障害
油症患者においてはマイボーム腺機能異常から涙液層の安定性が低下する可能性がある。今回油症認定患者の涙液層破壊時間と、血中の PeCDF 濃度との関連を調査した。長崎県油症検診受診者において血中 PeCDF 濃度は涙液層破壊時間との関連は認められなかった。

4. 油症患者における顎口腔機能について
令和 7 年度の長崎県油症検診において歯科検診を受診した患者を対象に、特に開閉口に関する筋や顎関節などを調べ顎口腔機能に関する検討を行った。対象者は、176 名であった。そのうち、疼痛や違和感など自覚症状を認める者が 19 名、触診により筋や関節部に疼痛を認める者が 13 名、クリック音やクレピタスなど顎関節部の雑音を認める者が 46 名であった。また、開口障害の認められる者は 5 名であった。いずれも症状は軽度で、咀嚼障害や摂食困難などの重い症状は認められなかった。

5. 油症における Interleukin-1 β の検討
2025 年度福岡県油症一斉検診の受診者

214 例において Interleukin-1 β (IL-1 β) を測定した。IL-1 β が基準値 10 pg/mL 超の上昇を油症患者 10 例、油症患者 (同居家族) 2 例、未認定患者 6 例の 18 例に認めた。同居家族を含む油症患者 149 例について診定保留を含む未認定患者 65 例を対照者として、IL-1 β の上昇を認めたものは油症患者の 12 例 (8.1%)、対照者の 6 例 (9.2%) と出現率に差をみなかった。同居家族を含む油症患者 149 例について血中 PCB 濃度 0.5 ppb 以下の 62 例を血中 PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の 44 例を血中 PCB 高濃度群として、IL-1 β の上昇の出現頻度について検討した。IL-1 β 上昇を血中 PCB 低濃度群の 6 例 (9.7%) に比較し PCB 高濃度群では 2 例 (4.5%) と低い傾向を認めたが、差をみなかった。

6. 脂漏部位からの皮膚ガス分析による非侵襲的ダイオキシン評価

油症患者の病態理解とダイオキシンの長期的影響について、非侵襲的なアプローチを模索し、皮膚表面から採取した皮膚ガス成分について検討してきた。ダイオキシンが親脂性の性質を有することを踏まえ、今年度は脂漏部位である額からのより簡便なサンプリング方法を検討した。複数の採取媒体を比較した結果、キムワイプが最も低ノイズかつ高感度に成分を検出可能であった。キムワイプを用いて患者の額から採取した皮膚ガスを解析したところ、一部の成分において血中 PeCDF 濃度との相関が示唆された。

7. ポリ塩化ビフェニルとインターロイキン 8 (IL-8) の関係についての文献的考察

ポリ塩化ビフェニル (PCB) などのダイオキシン類は四肢の感覚障害を引き起こすことが知られているが、その機序は未解明である。本研究では、炎症性サイトカインであるインターロイキン 8 (IL-8) に着目し、PCB と IL-8 の関連について後方視的に文献検討を行った。その結果、多くの報告で PCB 曝露により IL-8 発現の上昇

が認められ、ポリニューロパチーを合併したカネミ油症症例における IL-8 の評価が病態解明の手がかりとなる可能性が示唆された。

8. カネミ油症患者へのオンライン診療確立ならびに漢方動画視聴率向上に関する研究

オンライン診療に内在する課題に対し、担当医による継続的な研鑽および定期的な陪席診療を実施することで、診療所見の確認および補正が可能となり、漢方専門家の知見を診療へ適切に反映できるオンライン診療体制を維持・強化することができた。さらに、油症患者に対する漢方医療に関する情報発信として、会報誌や検診会場での紹介を行った結果、油症患者向け動画コンテンツの視聴機会拡大に寄与した可能性が示唆された。

9. 油症暴露による継世代健康影響に関する研究 -油症 2 世、3 世における婦人科関連症状-

カネミ油症患者より出生した油症 2 世・3 世（20 歳以上・初経経験者）を対象に、婦人科関連症状の包括的検討を行った。油症 2 世 109 名・油症 3 世 5 名の計 114 名を解析対象とした。初経年齢（2 世 12.1 ± 1.6 歳、3 世 12.2 ± 0.8 歳）は日本人女性の平均初経年齢 12.23 歳と同程度であり、自然閉経年齢（2 世 50.2 ± 2.4 歳）は一般集団の報告値（中央値 50.54 歳）と同程度であった。早発閉経例は認められなかった。月経不順（2 世 27.5%、3 世 40.0%）、多嚢胞性卵巣症候群（PCOS、2 世 11.0%）、子宮内膜症（2 世 15.6%、3 世 40.0%）は一般集団の報告値と比較して高い傾向が認められた。子宮・卵巣手術を要した症例は油症 2 世 9 名で、子宮体がん・子宮筋腫（各 3 名）、子宮内膜症・子宮腺筋症・卵巣出血（各 1 名）であった。不妊治療歴は 2 世の 20.2% に認められ、ART 施行率は治療群の 45.5% であった。油症 2 世において早産（37 週未満）14.7%（5/34 件）、低出生体重（2500g 未満）14.3%（6/42 件）が認められ、いず

れも本邦一般集団の報告値を上回る傾向を示した。ただし症例数が限られており、油症曝露との関連については今後の継続的な検討が必要である。

III. 基礎的研究

1. 気道上皮細胞における Signal regulatory protein alpha (SIRP α) の役割の検討

ヒト気道上皮において、Signal regulatory protein alpha (SIRP α) は中枢気道の基底細胞、特に基底膜側の最下層に位置する基底細胞で発現していた。初代ヒト気道上皮細胞において、SIRP α 遺伝子をノックダウンすると、EGFR シグナルの活性が低下し、創傷治癒遅延、気道障害後の炎症応答の低下、および上皮再生が障害された。基底細胞において、SIRP α は EGFR シグナルを介して気道上皮再生に関与することが明らかになり、このシグナルをターゲットとした、油症気道損傷に対する新たな治療戦略の可能性が示唆された。

2. ベンゾピレン中毒ラットに対する芍薬甘草湯と温熱療法の併用効果検討

本研究は、ダイオキシン様作用を有するベンゾピレンによって誘導される末梢神経障害に対し、温熱療法および芍薬甘草湯の併用効果を、感覚機能、分子生物学的指標、および酸化ストレスの観点から検討した。感覚機能評価の結果、ベンゾピレン投与により A β 線維機能を反映する 2000 Hz 刺激に対する逃避反応閾値が上昇し、感覚鈍麻が認められた。一方、C 線維および A δ 線維に対応する低周波刺激では有意な変化は認められなかった。これらの変化は、温熱療法単独および芍薬甘草湯併用により抑制された。分子生物学的解析では、ベンゾピレン投与により AhR 経路の活性化指標である CYP1A1 の発現増加と、髄鞘関連タンパク質 MAG の発現低下が認められ、代謝ストレスおよび脱髄様変化の関与が示唆された。これらの変化も温熱療法および併用群において抑制傾向を示した。

さらに、ベンゾピレン投与は酸化ストレス

の増加および抗酸化能の低下を引き起こし、酸化還元バランスの破綻が確認されたが、温熱療法および芍薬甘草湯併用により抗酸化能の低下は抑制され、酸化ストレス状態の改善が示唆された。以上の結果から、ベンゾピレンによる末梢神経障害には、大径有髄線維の機能障害、脱髄様変化、および酸化ストレスの関与が示されるとともに、温熱療法は酸化還元環境および細胞内応答の調節を介して神経保護的に作用する可能性が示された。さらに、芍薬甘草湯との併用により、抗炎症・抗酸化作用が相補的に働き、神経障害の改善効果が増強される可能性が示唆された。本研究は、化学物質誘発性末梢神経障害に対する多角的介入の有効性を示す知見を提供するが、その詳細な分子機構については今後の検討が必要である。

3. PDE4 阻害と AhR シグナルのクロストークによる皮膚免疫の制御

本研究では、ヒト表皮細胞 (keratinocytes) における PDE4 阻害薬 ジファミラストと芳香族炭化水素受容体 (AhR) モジュレーターであるタピナロフの分子間クロストークを、皮膚バリア機能制御および薬剤代謝修飾の観点から解析した。ジファミラスト (5 μ M) とタピナロフ (0.5 μ M) の同時投与は、フィラグリン (FLG) およびロリクリン (LOR) の発現を相乗的に増強した。その機序として、AhR がシグナル統合の必須ハブとして機能しつつ、cAMP/CREB 経路が補完的に介入する構造が明らかとなった。さらに、ジファミラストによる CYP1A1 発現の抑制がタピナロフの代謝分解を遅延させ、薬理作用を持続・増幅させている可能性が示唆された。本知見は、外用薬によるアトピー性皮膚炎における皮膚バリア障害の改善に関する分子生物学的基盤を提供するものである。

4. 膠原病の皮疹形成機序における AHR の役割に関する研究

膠原病様ケラチノサイトモデルに対する AHR リガンドの抗炎症作用とその機序を解

明した。

5. 高残留性 PCB138 のラットにおける *in vivo* 代謝に関する研究

高残留性で 245 型 PCB として有名な PCB138 のラットにおける *in vivo* 代謝を調べた。すなわち、未変化体および代謝物 (3' -OH 体) の肝臓および血液中への分布、さらに糞尿中への排泄について調べ、246 型 PCB の PCB140 と比較した。まず、糞中 PCB138 を分析した結果、約 85% が吸収されることが示唆された。また、糞中代謝物として 3' -OH 体が検出され、投与後 2 日間で、投与量の 0.62% に相当した。一方、PCB140 の場合、代謝物 (3' -OH 体) は PCB138 代謝物の 4.3 倍であった。次に、尿中では、両 PCB ともに、未変化体と代謝物のいずれも検出されなかった。さらに、投与後 4 日目の肝臓において、PCB138 未変化体および代謝物は、それぞれ投与量の 3.3% および 0.04% が検出された。一方、PCB140 の場合、未変化体は投与量の 0.39% と少なく、また代謝物は検出されなかった。これらの結果から、PCB 代謝において、代謝されやすさは、肝臓への蓄積性とよく相関していることが改めて明らかになった。

6. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin による出生児の性未成熟の機構解析: 脳の性分化と生殖腺の発達に対する芳香族炭化水素受容体の寄与

令和 6 年度において、妊娠母体への TCDD 低用量曝露モデルおよび AHR 欠損ラットを用い、胎児精巣における精巣成長関連因子の発現が AHR 欠損により変動することを明らかにした。精巣成長関連因子である FGF 類およびその受容体は精巣の発生および分化過程に重要な役割を果たすことが知られており、胎児期におけるこれら因子の発現変動は将来的な精巣機能に影響を及ぼす可能性がある。本年度はこれらの知見を基盤とし、胎児期における分子制御機構をさらに明らかにすることを目的として、胎児精巣におけるエピジェネティック制御因子ヒストン脱アセチル化酵素

(HDAC) の発現解析を行った。さらに、胎児期における AHR 依存的影響が精巣以外の臓器にも及ぶ可能性を検討するため、胎児肝臓における CYP3A 発現変動と発育障害との関連解析を行うとともに、主要薬物代謝酵素群の網羅的解析を実施した。その結果、胎児精巣では AHR 欠損により HDAC2 および HDAC5 の発現上昇が認められた。HDAC はヒストンの脱アセチル化を介してクロマチン構造を変化させ、遺伝子発現を調節するエピジェネティック因子であることから、胎児期精巣における遺伝子発現調節機構の一部に AHR が関与している可能性が示された。一方、胎児肝臓では CYP3A 分子種が TCDD 曝露により誘導され、その変動は AHR 欠損下では認められなかったことから、この CYP3A 発現変動が AHR 依存的であることが明らかになった。CYP3A はグルココルチコイド代謝に関与することが知られており、胎児期におけるその発現変動はホルモン代謝環境を変化させ、発育障害と関連する可能性がある。さらに、その他の薬物代謝酵素について解析を行った結果、一部の CYP および UGT 分子種に AHR 依存的発現変動が認められた。一方、SULT 分子種には明らかな変動は認められなかった。以上より、胎児期における AHR は精巣においては遺伝子発現調節機構に関与し、肝臓においては代謝酵素発現制御を介して発達環境に影響を及ぼす可能性が示された。

7. ダイオキシン誘導性セレン結合性タンパク質 1 (SELENBP1): ヒト由来細胞を用いた検討

hSELENBP1 の 347 番目以降の C 末端領域は、hSELENBP1 の メタンチオール酸化 (MTO) 活性に必須の領域であることが知られている。本研究では、MTO 活性を制御する C 末端側領域と脂質代謝を調節する領域は区別することができ、347 番目以降のアミノ酸が欠損していても脂質代謝調節因子 PPAR α と RXR α の発現上昇作用は野生型と遜色ないことが示唆された。347 番目以降の C 末端領域は、必ずしも

これら遺伝子の発現上昇に必須ではないことが分かった。hSELENBP1 の C57S と C57A 変異では、検討した脂質代謝調節遺伝子の大部分の mRNA 発現量が野生型に比べ有意に低かった。推定セレン結合部位の 57 番目の Cys は脂質代謝調節遺伝子の発現の制御に部分的に関与しており、57 番目の Cys を Ser に置換すると抑制された。また hSELENBP1 の C5A、C8A および C80A では、野生型に比べ PPAR α mRNA 発現が有意に抑制された。5, 8, 80 番目の Cys は金属結合に関与するとされている CXXC モチーフの推定セレン結合部位である。これらの結果から hSELENBP1 が、これらの推定セレン結合部位でセレンと結合しているとする、hSELENBP1 の脂質代謝調節機能には 57 番目の Cys および CXXC モチーフでのセレンとの結合が大きな役割を果たしている可能性がある。本研究の成果をもとに、hSELENBP1 の生理的機能の一部が解明され、油症の研究・治療、脂質代謝調節に関する基礎的、臨床的な研究に貢献することが期待される。

8. フェロトーシス抑制を介した潰瘍性大腸炎治療標的の解明に関する研究

本研究では、油症における病態の一端を担うダイオキシン類による aryl hydrocarbon receptor (AhR) シグナルの恒常的活性化に着目し、腸上皮細胞におけるミトコンドリア機能障害およびフェロトーシスとの関連を検討した。さらに、AhR リガンドとして知られる青黛 (indigo naturalis: IN) の作用を解析し、酸化ストレス制御および細胞死制御機構への影響を評価した。その結果、IN はミトコンドリア形態および膜電位の改善、グルタチオン (GSH) の増加、脂質過酸化の抑制を介してフェロトーシスを抑制することが明らかとなり、AhR シグナル異常を背景とする病態に対する新規治療戦略の可能性が示唆された。

9. ダイオキシン類による MMP12 発現上昇と間葉一上皮転換に関する研究に関する研究

ダイオキシン類による AhR シグナルの活性化が、MMP12 発現を上昇させるとともに歯根膜細胞の上皮細胞転換を誘導する可能性が明らかとなった。

10. 芳香族炭化水素受容体を介した骨代謝制御機構に関する研究

AhRは骨代謝を制御する破骨細胞と骨芽細胞の分化に従い発現が増加し、ベンゾピレンはこれらの分化を阻害する。

11. ヒト末梢感覚神経における AHR シグナルを介した皮膚炎の制御機構の解明

本研究では、AHR を介した末梢神経と皮膚炎の関連を研究しており、油症患者における症状の病態解明を進めている。今回、ヒト表皮角化細胞を AHR リガンドで暴露し RNA-seq 解析を行った結果、複数のリガンドで共通して SMN2 の発現上昇を認めた。さらに油症患者血清を解析したところ、SMN2 濃度は男性患者で有意に上昇する一方で女性では上昇を認めなかった。また、SMN2 濃度は患者血清 PeCDF 濃度や神経症状との関連を示さなかった。SMN2 は AHR 刺激により誘導され、油症男性患者に特異的な変化を示す可能性があり、今後油症に関連する他の症状や発がんとの関係を探求していく。

D. 結論

環境汚染物質であるダイオキシン類が環境、生物に与える影響は国内外で検証されている。油症は住民が高濃度の PCB/ダイオキシン類を経口摂取した世界的にも稀な事件である。生体内で代謝されにくく、生体内に長期間残存するダイオキシン類がヒトに及ぼす慢性影響を検証した疫学研究は油症研究の他にない。

油症班では、血液中にごく微量に存在するダイオキシン類各異性体濃度を正確かつ再現性をもって測定している。今年度、

全国油症一斉検診受診者の解析では血中 PCDF 等の測定において認定患者と未認定者間で濃度差が再確認された。また、分析条件の最適化により PCQ 異性体の高感度測定法が改良され、国内機関間での測定値の一致から分析体制の信頼性が担保された。さらに、追跡調査の更新により長期生存データが蓄積された。婦人科症状の検討では月経異常や子宮内膜症等がやや多く認められ、継世代影響への可能性が示唆された。顎口腔機能評価では軽度の異常が一定割合で認められたが重篤な障害は確認されなかった。さらに、皮膚ガス分析による非侵襲的評価法の可能性や、PCB と IL-8 の関連に関する知見も得られ、油症の長期影響に関する理解が深化した。

油症の病態解明に向けた基礎研究では、AHR を中心とするシグナルの関与が多面的に明らかとなった。気道上皮では SIRT6 が EGFR シグナルを介して再生に関与することが示され、治療標的としての可能性が示唆された。PCB の代謝と肝蓄積性の関連、ならびに PDE4 阻害薬と AhR モジュレーターの相互作用による皮膚バリア機能改善機構が明らかとなったほか、SELENBP1 のセレン結合部位が脂質代謝調節に重要であることが示された。さらに、胎児期における AHR 依存的なエピジェネティック制御や薬物代謝酵素の発現変動、ベンゾピレン誘発神経障害に対する温熱療法および芍薬甘草湯の保護効果が確認された。加えて、歯根膜細胞や骨代謝、ケラチノサイトにおける炎症・分化制御、フェロトーシス抑制、SMN2 発現誘導など、AhR シグナルを介した多様な分子機構が示され、油症に伴う慢性影響の理解と新規治療戦略の基盤が一層強化された。

このダイオキシン類による継世代にわたる健康状況の解析と基礎的研究は、人類のダイオキシン類の影響を解明するために非常に重要であり、この研究によって、患者のみならず人類にとって有益な知見が得られると期待される。

E. 健康危険情報

なし。

F. 謝辞

本研究を進めるにあたって尽力頂いた研究分担者・協力者の先生方に厚く御礼を申し上げます。

分担研究報告書

油症患者の追跡調査

研究分担者 小野塚 大介 大阪大学大学院医学系研究科罹患後症状治療学 特任准教授
研究協力者 中村 優子 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 看護師
辻 学 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 准教授
中原 剛士 九州大学大学院医学研究院皮膚科学 教授

研究要旨 油症患者の長期死亡リスクについて再評価を行うことを目的として、追跡期間を延長し、油症患者の生存・死亡情報をアップデートした。その結果、追跡調査の対象者 1,664 名のうち、2026 年 2 月 28 日時点で生存の確認ができた者は 781 名 (46.9%)、死亡の確認ができた者は 808 名 (48.6%)、生死の確認ができなかった者は 75 名 (4.5%) であった。また、生存期間中央値は、54.6 年 (95% CI: 52.9-56.5) であった。

A. 研究目的

我々はこれまで、油症患者を対象とした追跡調査を実施してきた。40 年間の追跡調査の結果、男性の油症患者では全がん、肺がん、肝がんの死亡リスクが一般人より高いことを明らかにした (Onozuka et al., Am J Epidemiol, 2009)。また、50 年間の追跡期間の結果、男性の油症患者では全がんと肺がんの死亡率が一般人より高いこと、女性の油症患者では、肝がんの死亡率が一般人より高いことを明らかにした (Onozuka et al., Environ Health, 2020)。さらに、がんの 50 年間累積死亡率を検証した結果、男性油症患者では 16.8% (95% CI: 14.5-19.5)、女性油症患者では 8.8% (95% CI: 7.0-10.9) であることを明らかにした (Onozuka et al., Environ Int, 2021)。今後、追跡期間をさらに延長し、油症患者における長期死亡リスクの検証を進めていく必要がある。

そこで本研究は、追跡期間を延長するとともに、油症患者における死亡リスクを再評価することを目的として実施した。

B. 研究方法

前回実施した 50 年間追跡調査の対象となった油症患者 1,664 名について、行政機関、油症センター、油症相談員等の関係者にご協力いただき、生存・死亡情報のアップデートを行った。

また、死亡患者における死因の特定については、油症患者の名簿記録と人口動態調査 (基幹統計調査) の死亡票との照合を行う必要があることから、厚生労働省に対して申出書の記載事項変更に係る手続きを実施した。

なお、人口動態調査 (基幹統計調査) 死亡票の提供の申出について、これまでに厚生労働省から承認を得て実施したものは次のとおりである (平成 20 年 2 月 22 日付け厚生労働省発政統第 0222001 号、平成 20 年 12 月 24 日付け厚生労働省発政統第 1224001 号、令和 2 年 3 月 9 日付け厚生労働省発政統 0309 第 3 号、令和 2 年 12 月 9 日付け厚生労働省発政統 1209 第 2 号、令和 6 年 7 月 22 日付け厚生労働省発政統 0722 第 6 号、令和 6 年 10 月 16 日付け厚生労働省発政統 1016 第 4 号)。

(倫理面への配慮)

本研究は、九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会及び九州大学医系地区部局観察研究倫理審査委員会「カネミ油症の実態調査」(許可番号:30-384、2020-212、2023-24) の審査を経て実施した。

C. 研究結果

人口動態調査(基幹統計調査)の死亡票の使用に係る申出書の記載事項変更の手続きについては、厚生労働省政策統括官付参事官付審査解析室に申請を行い、新たに承認を得ることができた(令和7年12月4日付け厚生労働省発政統1204第2号)。

油症患者の生存・死亡情報をアップデートした結果、追跡調査の対象者1,664名のうち、2026年2月28日時点で生存の確認ができた者は781名(46.9%)、死亡の確認ができた者は808名(48.6%)、生死の確認ができなかった者は75名(4.5%)であった。また、生存期間中央値は、54.6年(95% CI: 52.9-56.5)であった。

D. 考察

今回、行政機関、油症センター、油症相談員等の関係者にご協力いただき、油症認定患者の追跡情報をアップデートすることができた。しかし、生死の確認ができなかった者が残されていることから、今後も関係者への情報収集や公的情報をもとにした生存確認を継続する予定である。

また、死亡者の死因特定に必要な人口動態調査(基幹統計調査)の死亡票の使用については、厚生労働省審査解析室から新たに承認を得ることができた。今後、死因が特定できていなかった死亡患者について、死亡票と照合させることで死因の特定を行うとともに、油症患者における長期死亡リスクの解析を行っていく予定である。

E. 結論

油症患者の追跡調査を延長し、油症認定患者の生存・死亡情報をアップデートした。その結果、追跡調査の対象者1,664名のうち、2026年2月28日時点で生存の確認ができた者は781名(46.9%)、死亡の確認ができた者は808名(48.6%)、生死の確認ができなかった者は75名(4.5%)であった。また、生存期間中央値は、54.6年(95% CI: 52.9-56.5)であった。

なお、追跡調査は継続中であり、暫定的な結果であることから、今後も住民票抄本等の公文書等による追跡調査を継続するとともに、主要死因別における長期死亡リスクの再評価を進めていく予定である。

(謝辞)

本研究の実施にあたり、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センターの井上豊子氏、渡辺直子氏、九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野の梶嶋啓子氏、油症相談員の只熊幸代氏、山根美喜子氏、相談支援員統括の山本直子氏に多大なるご協力をいただきましたことを深く感謝いたします。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

油症検診受診者の血液中 PCDF 等（ダイオキシン類）濃度実態調査

研究分担者	白石 博昭	福岡県保健環境研究所	所長
研究協力者	堀 就英	福岡県保健環境研究所	生活化学課 課長
	飛石 和大	福岡県保健環境研究所	生活化学課 専門研究員
	中村 麻子	福岡県保健環境研究所	生活化学課 研究員
	新谷 依子	福岡県保健環境研究所	生活化学課 研究員
	酒谷 圭一	福岡県保健環境研究所	生活化学課 研究員
	重富 敬太	福岡県保健環境研究所	生活化学課 主任技師
	工藤 愛透翔	福岡県保健環境研究所	生活化学課 技師
	平川 周作	福岡県保健環境研究所	水質課 専門研究員
	佐藤 環	福岡県保健環境研究所	計測技術課 研究員
	戸高 尊	公益財団法人北九州生活科学センター	課長
	広瀬 勇気	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員

研究要旨

全国油症一斉検診の受診者について血液中の PCDF 等（ダイオキシン類）の濃度を継続的に測定している。2024 年度に測定を行った認定患者 72 名と未認定者 169 名について結果集計を行った。認定患者の 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は平均 27 pg/g-fat となり、2,3,7,8-TeCDD 毒性等価係数(WHO-2006)を用いて毒性等量(TEQ)に換算した総ダイオキシン類(Total TEQ) 濃度は平均 25 pg-TEQ/g-fat であった。未認定者の 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は平均 5.4 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 9.9 pg-TEQ/g-fat であった。

血液中ダイオキシン類の微量分析技術を用い 2024 年度に実施した血液中ダイオキシン類分析精度管理について、データ解析を行った。その結果、当所を含む国内 5 機関の定量値は概ね一致しており、各機関で血液中ダイオキシン類の定量分析が適切に実施されていることが確認された。

これまでに本分担研究では、油症患者において特徴的に低い存在割合を示す 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB118) について、ヒトチトクローム (CYP) 2A6 を介した代謝物の生成を確認している。また昨年度までに *in vitro* 代謝試験による再試験と実験操作の改良によって、代謝物の生成を示すピークを検出したが、物質の同定はできていなかった。本年度は新たに入手した水酸化 PCB 標準品 (6-OH-CB77) を測定し、クロマトグラム上で未同定のピークと比較した。この結果、両者の保持時間は一致せず、代謝産物の同定には至らなかった。

現在、2025 年度の全国油症一斉検診の受診者のうち、血液中ダイオキシン類の測定対象者 (229 名) について測定及び解析作業を継続している。

A. 研究目的

2004 年に血液中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 値が新たな油症診断基準に加えられた。また 2012 年 12 月には油症診断基準追補(同居家族の条件追補)が加わり、2024 年度時点での認定患者数は 2, 394 名である。

全国油症治療研究班では、油症認定患者の治療と追跡ならびに未認定者の患者診定に資することを目的として、毎年全国で油症一斉検診を行っている。本分担研究では、福岡県保健環境研究所で開発した血液中ダイオキシン類分析法を用いて、油症一斉検診受診者のうち、2001 年度は福岡県の受診者中の希望者、2002～2006 年度の 5 年間は全国の受診者における希望者、2007 年度からは未認定者と油症認定患者のうち初回及び過去 3 年以内に測定歴の無い認定患者の血液中ダイオキシン類濃度を測定してきた。測定結果は患者認定における指標値として用いられ、患者の血液中ダイオキシン類濃度の解明、血液中濃度の経年推移や体外排泄速度の解析等に活用されている。

本年度は、2024 年度全国油症一斉検診の受診者のうち血液中ダイオキシン類濃度を測定した 241 名について結果集計を行った。さらに国内で血液中ダイオキシン類・PCB 測定を行っている分析機関に共通の血液試料を配付し、各機関の定量結果を比較する精度管理を行った。

これまでに本分担研究では PCB 標準品を用いて *in vitro* 代謝試験を実施し、2, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl (PCB118) とヒトチトクローム(CYP)2A6 を反応させ、生成する水酸化 PCB を HRGC/HRMS で分析した。その結果、異なる代謝反応条件で同一の代謝物が生成することを確認したが、物質の同定には至らなかった。一方、太田ら

によるモルモット肝ミクロゾームを用いた PCB118 の *in vitro* 代謝試験では、塩素が 1 つ脱離した 4 塩素代謝物の生成が報告されている¹⁾。この報告ではフラグメントイオンの情報から、水酸基の *ortho*-位への置換を推測していたが、代謝産物の特定は本分担研究と同様にできていなかった。そこで本年度は代謝産物の候補の一つである 6-OH-CB77 の標準品を新たに入手し、未同定物質とクロマトグラム上のピーク位置が一致するか確認を行った。

B. 研究方法

1. 血液中ダイオキシン類濃度分析の精度管理

国内の分析機関(4 か所)に 2 種類の血液試料(Sample 1 及び 2)を配付し、ダイオキシン類(毒性等価係数が設定されている 29 異性体)の測定を依頼した。分析は各機関で通常行っている試験法に従って実施された。各機関からの報告値は全血重量及び脂肪重量あたりのダイオキシン類異性体別濃度及び毒性等量(TEQ)とした。TEQ の算出には TEF(WHO-2006)を用いた。

各機関の報告値に福岡県保健環境研究所の測定値を加えた 5 機関分のデータを集計して解析した。定量下限未満の異性体濃度は定量下限の 1/2 値に置き換え、全血重量及び脂肪重量あたりの測定結果を集計した。各分析機関の比較には CV 値および Z スコアを用いた。

2. 血液中ダイオキシン類の測定

血液中ダイオキシン類の測定は、2001 年度に開発した高感度分析法に準じて行った。油症一斉検診で要求される条件(分析期間、処理件数、分析感度)に対応するために、必

要に応じて抽出法や機器分析法に改良を加えながら現在に至っている。定量結果の信頼性を確保するため、血液試料 22 件につきブランク試験 1 件、内部精度管理試料としてヒト血清 1 件を加えた計 24 件を「1 バッチ」として前処理を実施し、試験操作が適切に実施されているか確認した。

2024 年度の油症一斉検診受診者のうち、初回及び過去 3 年以内に血液中ダイオキシン類測定歴が無い認定患者 72 名及び未認定者 169 名から得られた血液を対象に測定を実施した。血液はヘパリン入り真空採血管に採取され、測定まで 4℃以下で冷蔵保存された。

ダイオキシン類各異性体濃度の 2, 3, 7, 8-TCDD 毒性等量 (TEQ) への換算には、2005 年に WHO が策定した毒性等価係数 (WHO-2006) を用いた。各受診者の区分 (認定または未認定) は 2024 年の検診受診時のものを用いた。なお、本報告では脂肪重量当たりの濃度単位を「pg /g-fat」もしくは「pg-TEQ/g-fat」と表記した。

3. ヒト CYP2A6 組換え酵素を用いた PCB118 の *in vitro* 代謝産物の同定検討

昨年度までの本分担研究において、ヒト CYP2A6 組換え酵素 (Human CYP2A6 + P450 Reductase + Cytochrome b5, CORNING) 及び PCB118 (AccuStandard Inc.) を用いて *in vitro* 系で代謝試験を実施、生成した水酸化 PCB を HRGC/HRMS で分析し、クロマトグラムを取得している。

本年度は、代謝産物の候補の一つである 6-OH-CB77 の標準品を入手し、HRGC/HRMS による測定クロマトグラムを取得した。これらの水酸化 PCB の測定は、愛媛大学沿岸環境科学研究センター共同利用・共同研究拠

点「化学汚染・沿岸環境研究拠点」で実施した。

(倫理面への配慮)

血液中ダイオキシン類の測定は、本人の同意が得られた者のみを対象とした。研究成果の発表に際しては統計的に処理された結果のみを使い、個人を特定できるような情報は存在しない。また、本研究は「福岡県保健環境研究所疫学研究倫理審査委員会要綱」に基づき、審査を受け承認されたものである (許可番号 R6-2 及び R6-3、2024 年 12 月 25 日承認)。

C. 研究結果・考察

1. ダイオキシン類分析の信頼性確保

1-1. 微量測定技術の確立

油症診断及び検診において PCB パターン判定に使用される 3 異性体 (PCB118, 153 及び 156) について、油症検診受診者の血液中濃度を GC-MS/MS を用いて分析した。測定条件を表 1 に示す。GC-HRMS を用いて得られた結果と比較した結果、血液中濃度が低い一部の検体については濃縮率を上げる工夫が必要であったものの、両者は幅広い濃度範囲で良好に一致しており (図 1)、GC-MS/MS が GC-HRMS に代わる機器分析法として適用できる可能性が示された。

1-2. 内部精度管理

各測定バッチ (24 件) のブランク試験結果の取扱いは、厚労省が策定した「血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル」に準じて行った。全測定を通じて定量精度に著しい影響を与えるような操作ブランクの出現は認められなかった。

血液試料と並行分析したヒト血清試料についてダイオキシン類異性体の定量値を各

バッチ間で比較したところ、CV は約 10%で再現性は良好であった。

1-3. 外部精度管理

5 機関 (A~E) の血液中ダイオキシン類濃度の測定結果 (全血重量あたり) を表 2 に示した。血液中の各同族体 PCDDs、PCDFs、non-*ortho* PCBs、mono-*ortho* PCBs 及び Total TEQ の平均値は Sample 1 がそれぞれ 0.015、0.044、0.011、0.0018 及び 0.072 pg-TEQ/g-wet、Sample 2 が 0.013、0.015、0.019、0.0014 及び 0.048 pg-TEQ/g-wet であり、Sample 1 及び 2 の Total TEQ の CV 値はそれぞれ 12% 及び 15% であった。結果として各分析機関の測定値は概ね一致しており、ダイオキシン類の抽出と測定は良好に実施されていたと考えられた。

ダイオキシン類濃度を抽出脂肪重量あたりに換算すると、Total TEQ の平均値は Sample 1 が 19 (CV : 18 %)、Sample 2 が 12 pg-TEQ/g-fat (CV : 4.9 %) であり、Sample 1 では脂肪濃度測定の影響を受けていると考えられた (表 3)。Z スコアによる評価では、脂肪重量あたりの濃度であっても Sample 1、2 ともに Z スコアが ±2 を超えた機関はなく、良好な結果であった (図 2)。

2. 2024 年度油症一斉検診受診者の血液中ダイオキシン類濃度

2024 年度の血液中ダイオキシン類測定対象者は 241 名 (内訳 : 認定患者 72 名及び未認定者 169 名) であった。2023 年度の 364 名と比べると 123 名の減少となったが、未認定者の減少数は前年度に比べて 12 名と僅かであった。この背景として、2021 年から始まった次世代調査の対象者が未認定者として受診しており、測定件数を押し上げた結果と考えられる。

表 4 に 2024 年度の油症一斉検診の油症認定患者及び未認定者の血液中ダイオキシン類濃度の分析結果、ならびに 2004 年度に福岡県内で実施した一般住民の血液中ダイオキシン類濃度を示した。

認定患者 (72 名) の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は平均で 27 pg/g-fat となり、2, 3, 7, 8-TeCDD 毒性等価係数 (WHO-2006) を用いて毒性等量 (TEQ) に換算した総ダイオキシン類濃度 (Total TEQ) は平均 25 pg-TEQ/g-fat であった。未認定者 169 名の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の平均濃度は 5.4 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 9.9 pg-TEQ/g-fat であった。未認定者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 平均濃度を対照群の一般住民 (2005 年)²⁾と比較すると、同等か低い濃度であった。

図 3 は未認定者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の階層別人数の分布を示した。未認定者の多くは一般人と同等の 20 pg-TEQ/g-fat 未満に分布し、油症診断基準で「高い濃度」の区分とされる 50 pg/g-fat 以上の受診者はなかった。未認定者 169 名の採血時年齢に対する血中濃度の分布をみると、濃度は年齢に対して指数関数的に増大する傾向を示し、一般人と同様に日常的な食事経由の摂取に伴う影響が顕著であった。事件後に出生した年代 (15~55 才) 117 名の血中濃度は、平均 3.2 pg/g (範囲 : <0.5~12 pg/g lipid) となっていた。

3. ヒト CYP2A6 による PCB118 の代謝産物ピークパターンの比較

PCB118 は 5 塩素化物の PCB であるものの、ヒト CYP2A6 組換え酵素を用いた *in vitro* 代謝試験では 4 塩素化物の水酸化 PCB 異性体のみの生成が確認されている。*In vitro* 代謝試験で生成した水酸化 PCB 異性体と 6-

OH-CB77 標準品について HRGC/HRMS で測定したクロマトグラムを比較したところ、両ピークの保持時間は一致しなかった(図4)。

In silico 解析によるドッキング様式のシミュレーションで予測された代謝産物と *in vitro* 代謝試験による標準品との比較結果を図5に示す。本年度までの研究から、8つの候補物質のうち少なくとも3物質には該当しないことが確認され、残り5つが候補物質となった。

D. 結論

少量(約5グラム)の血液から2,3,4,7,8-PeCDFを含むダイオキシン類を定量する分析技術と体制を維持し、継続して測定を行ってきた。測定データの信頼性を確保するためにブランク試験、内部精度管理を実施し、国内の分析機関と共通の血液試料を分析する精度管理を行った。

2024年度の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、認定患者72名と未認定者169名であった。認定患者の2,3,4,7,8-PeCDF平均濃度は27 pg/g-fat、Total TEQ濃度の平均は7.2 pg-TEQ/g-fatであった。未認定者の2,3,4,7,8-PeCDF平均濃度は5.4 pg/g-fat、Total TEQの平均濃度は3.9 pg-TEQ/g-fatであった。未認定者の血液中ダイオキシン類濃度は一般人と同等か低く、2,3,4,7,8-PeCDF濃度で油症診断基準の「高い濃度」に区分される受診者はいなかった。2001年度から23年間継続している血液中ダイオキシン類濃度測定の累計数は7071件となった。2024年度の測定結果はすでに油症診断データベースへ追加登録されており、臨床症状との関連性解析などに今後活用される。

ヒト CYP2A6 組換え酵素と PCB118 を *in*

vitro 系で反応させ生成した水酸化 PCB について、*in silico* 解析によるドッキング様式のシミュレーションから予測された代謝産物の一つである 6-OH-CB77 標準品のクロマトグラムを比較した。その結果、*in vitro* 代謝試験で確認されたピークと 6-OH-CB77 のピークの保持時間は一致しなかったことから、生成した水酸化 PCB 異性体は同定には至らなかった。

一方、これまでの本分担研究で実施した PCB153 の代謝試験で示されたように、一対の PCB-CYP の反応を確認できる *in vitro* 代謝試験および生体内で起こり得る反応をシミュレーションする *in silico* 解析技術を相補的に組み合わせることで、ヒト体内における CYP 分子種と PCB 異性体の代謝反応の把握と解明に寄与する有用な技術になり得ると考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表等

- 1) Shusaku Hirakawa, Tsuguhide Hori, Susumu Katsuki, Takashi Miyawaki, Masashi Hirano, Hisato Iwata, Gaku Tuji, Potential ability of human cytochrome P450 isozymes to metabolize dioxins involved in the Yusho incident. Environmental Monitoring and Contaminants Research, 2026. 6. 1-6.
- 2) 平川周作、油症患者の PCB 蓄積特性と *in silico* による CYP を介した代謝予測. 日本内分泌攪乱物質学会 NEWS LETTER、2025 年 10 月、28(2)、10.

2. 学会発表

- 1) 酒谷圭一、飛石和大、堀就英、白石博昭、中原剛土、GC-MS/MS を用いた油症検診受診者の血液中 PCB の分析. 第4回環境化学

物質合同大会、2025 年 7 月 15-18 日、山形市.

- 2) 新谷依子、工藤愛透翔、酒谷圭一、飛石和大、堀就英、白石博昭、中原剛士、血液中ダイオキシン類分析のクロスチェック (2024 年度). 第 4 回環境化学物質合同大会 (第 33 回環境化学討論会)、2025 年 7 月 15-18 日、山形市.

F. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

参考文献

- 1) 太田千穂、原口浩一、加藤善久、古賀信幸：2,3',4,4',5-五塩素化ビフェニル (CB118) のモルモット肝ミクロゾームによる代謝. 福岡医誌 96 : 232-240、2005.
- 2) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K, Iida T, Furue M. Concentrations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-*ortho* and mono-*ortho* polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. Chemosphere. 66, 1983-1989, 2007.

表 1 GC-MS/MS 測定条件

GC conditions	
GC	SHIMADZU Nexis GC-2030
Column	HT-8 PCB (TRAJAN, 60 m × 0.25 mm i.d.)
Injection mode and volume	Splitless (Purge time is 1 min), 1 µL
Injection port temp.	280 °C
Carrier gas	Helium gas with a purity of greater than 99.999%, 1.0 mL/min constant flow
Oven temp.	Initial temperature at 100 °C hold for 1 min → heat up to 180 °C at 40 °C/min → heat up to 260 °C at 2.5 °C/min → heat up to 300 °C at 8 °C/min → heat up to 320 °C at 10 °C/min → hold at 320°C for 8 min
MS conditions	
MS	SHIMADZU GCMS-TQ8050
Ionization voltage	70 eV
Ionization current	150 µA
Temperature of ion source	300 °C
Target masses and collision energies	PCB118 $m/z = 325.90 > 255.90$, 30 V $m/z = 323.90 > 253.90$, 30 V $^{13}\text{C}_{12}$ - PCB118 $m/z = 337.90 > 267.90$, 25 V $m/z = 335.90 > 265.90$, 30 V PCB153 and PCB156 $m/z = 359.85 > 289.85$, 35 V $m/z = 357.85 > 287.85$, 25 V $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB153 and $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB156 $m/z = 371.90 > 301.90$, 25V $m/z = 369.90 > 299.90$, 35V

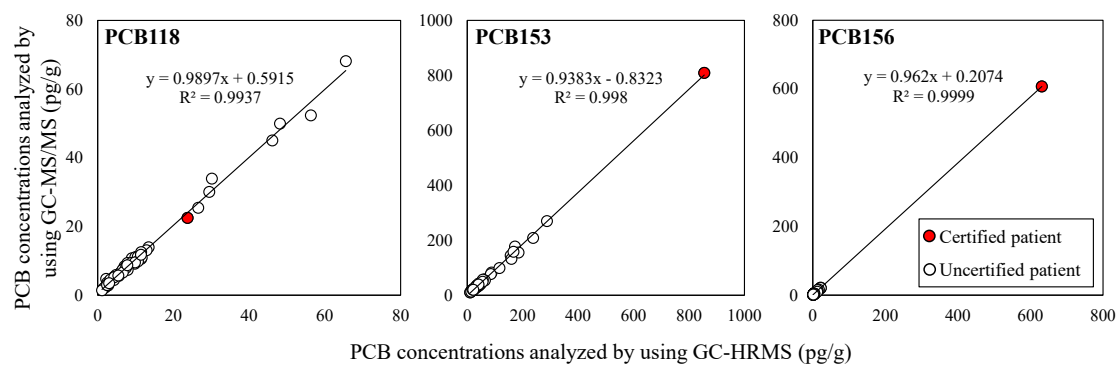


図1 GC-MS/MS と GC-HRMS による血液中 PCB 濃度の比較

表2 共通血液試料中のダイオキシン類測定結果（単位：pg/g-wet）

(1) Sample 1

	分析機関					Mean	CV (%)
	A	B	C	D	E		
Total PCDDs	0.015	0.015	0.021	0.015	0.0081	0.015	30
Total PCDFs	0.040	0.047	0.050	0.043	0.042	0.044	9.2
Total non-ortho PCBs	0.011	0.012	0.012	0.012	0.010	0.011	7.6
Total mono-ortho PCBs	0.0018	0.0018	0.0017	0.0018	0.0017	0.0018	3.7
Total dioxins	0.068	0.075	0.085	0.073	0.062	0.072	12

(2) Sample 2

	分析機関					Mean	CV (%)
	A	B	C	D	E		
Total PCDDs	0.013	0.014	0.018	0.013	0.0062	0.013	33
Total PCDFs	0.013	0.016	0.016	0.017	0.013	0.015	11
Total non-ortho PCBs	0.016	0.023	0.018	0.019	0.016	0.019	16
Total mono-ortho PCBs	0.0015	0.0014	0.0015	0.0014	0.0014	0.0014	4.2
Total dioxins	0.044	0.055	0.054	0.050	0.037	0.048	15

表3 共通血液試料中のダイオキシン類測定結果（単位：pg-TEQ/g-fat）

(1) Sample 1

	分析機関					Mean	CV (%)
	A	B	C	D	E		
Total PCDDs	3.8	3.0	4.8	5.1	2.7	3.9	28
Total PCDFs	9.9	9.4	11	15	14	12	21
Total non-ortho PCBs	2.7	2.3	2.9	4.0	3.5	3.1	22
Total mono-ortho PCBs	0.45	0.36	0.37	0.60	0.58	0.47	23
Total dioxins	17	15	19	24	21	19	18

(2) Sample 2

	分析機関					Mean	CV (%)
	A	B	C	D	E		
Total PCDDs	3.3	3.0	4.2	3.2	2.1	3.2	24
Total PCDFs	3.4	3.4	3.7	3.8	4.6	3.8	14
Total non-ortho PCBs	4.2	4.9	4.2	4.4	5.5	4.7	12
Total mono-ortho PCBs	0.38	0.29	0.34	0.34	0.46	0.36	17
Total dioxins	11	12	12	12	13	12	4.9

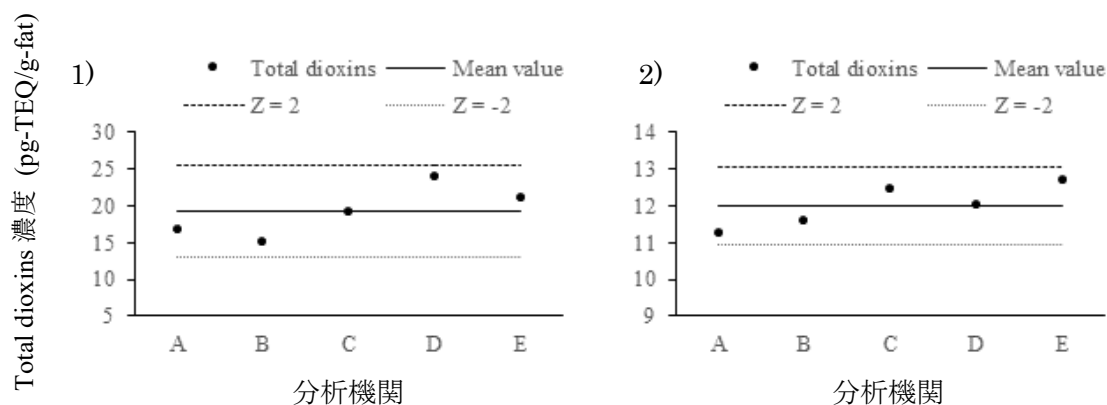


図2 機関別血液中 Total Dioxins 濃度の $\bar{X}$ 管理図 (1) Sample 1、(2) Sample 2

表4 2024年度血液中ダイオキシン類濃度調査結果（単位：pg/g-fat）

同族体名	認定者(72名)				未認定者(169名)				一般住民(127名) ¹⁾		
	平均	中央値	範囲		平均	中央値	範囲		平均	範囲	
			最小	最大			最小	最大		最小	最大
2,3,7,8-TeCDD	0.86	0.50	ND	3.0	0.62	0.50	ND	2.3	1.9	0.50	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	4.0	3.4	ND	12	2.0	1.5	ND	8	9.0	3.2	20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.5	1.0	ND	8	1.5	1.0	ND	18.3	3.6	0.50	13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	19	13	4.1	96	7.2	5.6	ND	51	28	7.3	70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.9	1.0	ND	11.9	1.6	1.0	ND	16.8	4.5	0.50	16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	14	10.2	4.0	110	14.3	9.7	ND	320	78	18	470
OCDD	160	110	35.8	1800	190	130	32	5100	1200	180	7600
2,3,7,8-TeCDF	0.9	0.50	ND	3.8	0.66	0.50	ND	4.0	1.0	0.50	4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	0.57	0.50	ND	1.6	0.53	0.50	ND	2.2	0.67	0.50	4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	27	14	2.5	340	5.4	3.5	ND	26	17	6.0	63
1,2,3,4,7,8-HxCDF	3.8	2.1	ND	50	1.6	1.0	ND	7.9	5.0	1.0	20
1,2,3,6,7,8-HxCDF	2.9	2.2	ND	19	1.6	1.0	ND	10	5.7	1.0	16
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	-	-	-	1.0	1.0	ND	2.2	1.2	1.0	5.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	-	-	-	1.1	1.0	ND	4.7	ND	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.2	1.0	ND	4	1.1	1.0	ND	4.6	2.2	1.0	14
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	-	-	-	1.0	1.0	ND	4.5	ND	-	-
OCDF	ND	-	-	-	ND	-	-	-	2.1	2.0	18
3,4,4',5'-TeCB(PCB81)	ND	-	-	-	5.1	5.0	ND	17	5.6	ND	24
3,3',4,4'-TeCB(PCB77)	6.6	5.0	ND	24	7.3	5.0	ND	42	8.4	ND	31
3,3',4,4',5'-PeCB(PCB126)	55	48	ND	210	28	15	ND	330	110	17	520
3,3',4,4',5,5'-HxCB(PCB169)	89	71	12.1	270	30	16	ND	230	64	16	190
Total PCDDs	200	140	53	2000	220	150	43	5600	1300	210	8200
Total PCDFs	42	26	11	420	16	13	10	56	37	15	86
Total PCDDs and PCDFs	240	170	68	2000	230	160	56	5600	1300	220	8300
Total Non-ortho PCBs	160	130	27	400	71	41	20	620	190	59	740
Total Dioxins	400	330	130	2200	310	210	91	5700	1500	280	9000
Total PCDDs(TEQ)	7.2	5.4	1.7	27	3.9	2.9	1.3	21	16	5.1	35
Total PCDFs(TEQ)	9	4.8	1.23	110	2.3	1.6	0.64	10	6.6	2.3	14
Total PCDDs and PCDFs(TEQ)	16	12	3.0	130	6.1	4.5	2.0	26	22	7.4	50
Total Non-ortho PCBs(TEQ)	8.2	6.8	0.87	25	3.7	1.9	0.65	40	13	2.6	58
Total TEQ	25	18	4.1	140	9.9	6.5	2.6	58	37	12	110

(ND: 定量下限値未満)

濃度範囲		未認定者(人)
以上	未満	
25	30	2
20	25	1
15	20	11
10	15	15
5	10	31
0	5	109
人数計		169

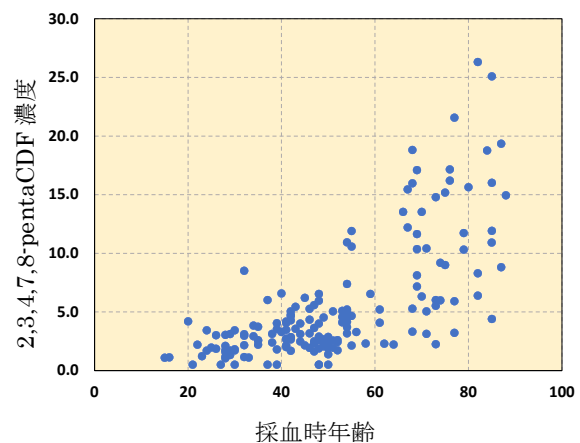


図3 未認定者（169名）の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度（単位：pg/g-fat）の分布
左：濃度階級別の度数分布表、右：採血時年齢に対する濃度分布図

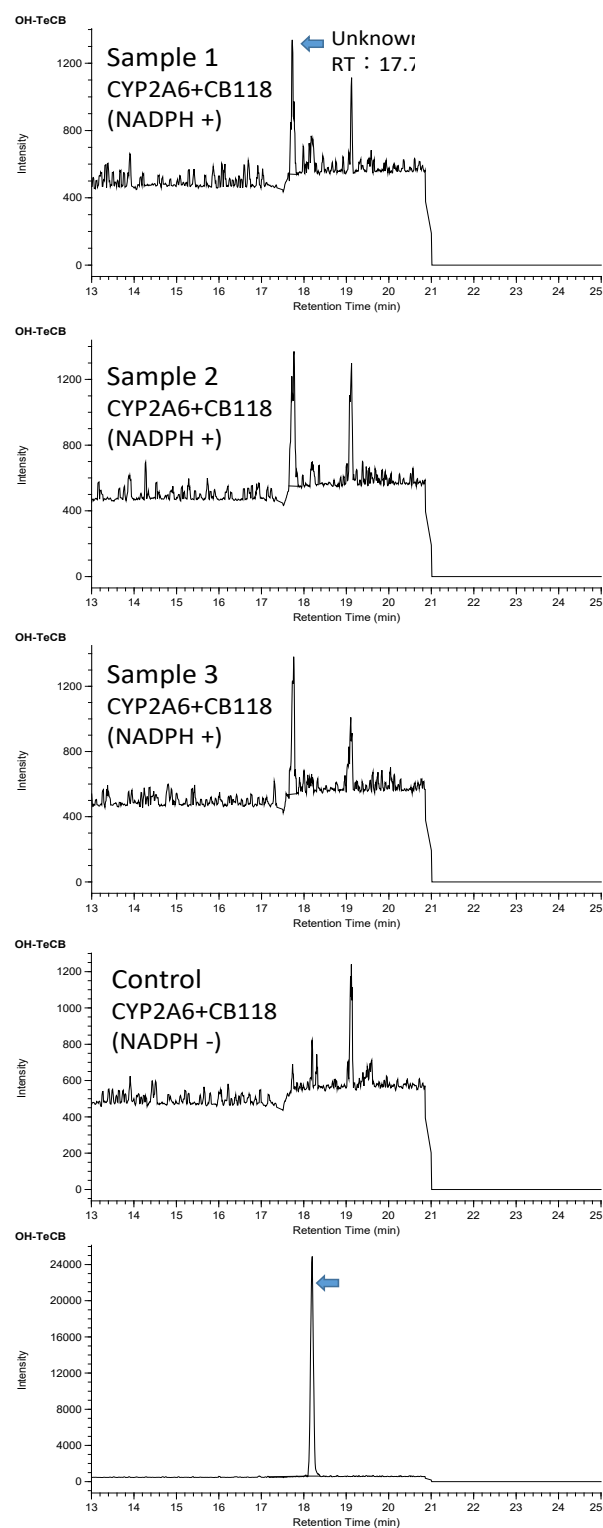


図4 ヒト CYP2A6 による PCB118 の 4 塩素化体水酸化 PCB 代謝産物のクロマトグラム

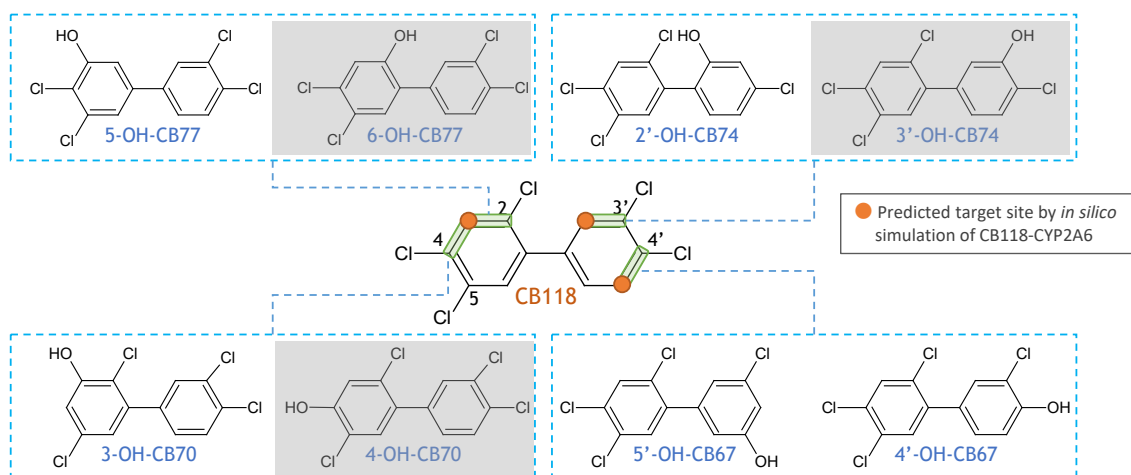


図5 PCB118-CYP2A6 の *in silico* シミュレーションから予測される PCB118 の代謝標的部位と生成される可能性がある 4 塩素化体水酸化 PCB 異性体（灰色：標準品と一致しないことを確認済み）

分担研究報告書

油症検診データを用いた基礎的解析

研究分担者 白石 博昭 福岡県保健環境研究所 所長
研究協力者 高尾 佳子 福岡県保健環境研究所企画情報管理課 専門研究員
熊谷 博史 福岡県保健環境研究所企画情報管理課 課長

研究要旨 全国油症一斉検診受診者の傾向把握を目的として、2024 年度の検診で得られた検診票を収集・電子化し、集計を行った。検診受診者数は 552 人（認定及び同居家族認定 383 人、未認定 169 人）であった。内科・皮膚科・眼科・歯科検診の有所見率は、近年の傾向と同様であり、大きな変化は認められなかった。

A. 研究目的

本研究では、1986 年度に統一された検診票様式を用いて行われている油症検診（以下、「検診」）情報を体系的に蓄積・管理し、油症患者の健康管理及び長期的健康影響の評価に資する基礎資料を整備することを目的とした。

B. 研究方法

1. 検診票の収集・電子化及び集計

2024 年 7 月から 11 月に、全国 11 追跡調査班（関東以北班、千葉県班、愛知県班、大阪府班、島根県班、広島県班、山口県班、高知県班、福岡県班、長崎県班、鹿児島県班）で実施した検診において得られた検診票を、各追跡調査班の協力を得て収集した。収集した検診票は電子化を行い、内容点検及び疑義照会による修正を経てデータを確定し、集計を行った。なお、確定データは検診情報一元管理システムに登録した。

2. 過去の検診情報の提供

認定者の血液中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度測定は、4 年に 1 度実施されることとなっている。このため、検診時に測定対象者を判定できるよう、過去の測定実績を追跡調査班へ提供した。また、受診者数の多い追跡調査班に対しては、診定会議に用いる基

礎データを提供した。

3. 受診者情報の更新

受診者区分（認定、同居家族認定、未認定）、氏名及び住所については、検診受診後に変更が生じることがあるため、油症事務局、油症ダイオキシン研究診療センター及び各追跡調査班から提供された情報に基づき、受診者情報の更新を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は「福岡県保健環境研究所疫学研究倫理審査委員会要綱」に基づき、審査を受け承認されたものである（許可番号第 R6-2、2024 年 12 月 25 日承認）。

C. 研究結果

1. 検診受診者の概要

2024 年度検診の受診者内訳を表 1 に示す。認定及び同居家族認定（以下、認定と略）が 383 人、未認定が 169 人の計 552 人が受診していた。年齢階級別では、認定者は 70 歳代、未認定者は 40 歳代がそれぞれ最多であった。

なお、検診受診者は年度ごとに同一集団ではなく、年齢構成や受診状況の変化を伴うことから、有所見率の他年度との比較に当たっては解釈に留意を要する。

2. 検診科目別所見状況

検診の所見区分を表2に示す。

(1) 内科

内科検診の有所見率を表3に示す。自覚症状としては、認定者において全身倦怠感、関節痛、しびれ感が比較的高頻度に認められた。未認定者においても全身倦怠感が高頻度にみられ、次いで頭重・頭痛が多かった。他覚所見の有所見率は全体として低値であった。

(2) 皮膚科

皮膚科検診の有所見率を表4に示す。他覚所見では認定者において黒色面皰の有所見率が最も高く、癬痕化及びざ瘡様皮疹がこれに続き、油症に特徴的な皮膚所見が一定の頻度で認められた。未認定者においては黒色面皰、ざ瘡様皮疹及び癬痕化が概ね同程度の頻度で分布していた。

(3) 眼科

眼科検診の有所見率を表5に示す。主訴では認定者において眼脂過多がやや高い傾向がみられたが、いずれの群においても低値であった。他覚所見はいずれも低頻度であり、認定者では眼瞼結膜色素沈着が相対的に多く認められたものの、全体として所見頻度は低水準であった。未認定者では眼瞼結膜色素沈着のみが認められた。

(4) 歯科

歯科検診の有所見率を表6に示す。口腔所見における歯周病は認定者、未認定者ともに主訴、色素沈着所見に比べて有所見率が高く、特に認定者では半数以上に認められた。色素沈着所見は歯肉及び唇粘膜に比較的高頻度にみられ、頬粘膜及び口蓋粘膜では低頻度であった。これらの所見は未認定者においても同様の分布傾向を示したが、全体として認定者でより高頻度に認められた。

D. 考察

今回観察された所見の分布は、新型コロナウイルス感染症の影響により検診を縮

小して実施する以前の2018年度及び2019年度の検診結果と概ね同様であり、さらに通常の検診体制に戻った2023年度の結果とも大きな差は認められなかった^{1)~3)}。内科では自覚症状が一定の頻度で継続して認められる一方、明確な他覚所見の増加はみられず、近年の検診結果と同様の傾向であった。皮膚科では黒色面皰を中心とした特徴的所見が引き続き認められ、油症に関連する皮膚所見が長期経過後も持続している可能性が示唆された。眼科所見は全体として低頻度で推移しており、顕著な変化は認められなかった。

歯科では歯周病の有所見率が比較的高かったが、歯周病は一般集団においても加齢とともに有病率が上昇することが知られている。本検診受診者の年齢中央値は認定者70歳、未認定者48歳であり、厚生労働省の令和6年歯科疾患実態調査⁴⁾における「歯周ポケットを有する者の割合」は、45~49歳で41.4%、70~74歳で58.0%と報告されている。本研究で観察された有所見率は概ね同程度の水準であり、歯周病の有所見率の高さは受診者の年齢構成を反映した結果と考えられた。色素沈着所見は過去の検診結果と同様の分布傾向を示しており、長期的に持続する所見であることが示唆された。

E. 結論

2024年度検診における有所見状況は、受診者構成の違いを考慮する必要はあるものの、全体として大きな変化は認められなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

参考文献

- 1) 香月進、高尾佳子、高橋浩司、田中義人，油症検診データを用いた基礎的解析．令和元年度分担研究報告書．11-18，2020
- 2) 香月進、高尾佳子、高橋浩司，油症検診データを用いた基礎的解析．令和2年度分担研究報告書．24-29，2021
- 3) 白石博昭、高尾佳子、熊谷博史，油症検診データを用いた基礎的解析．令和6年度分担研究報告書．25-30，2025
- 4) 厚生労働省，令和6年歯科疾患実態調査結果の概要

表1 検診の受診者内訳（2024年度）

受診者区分及び年齢階級	総数		男性		女性	
	n	%	n	%	n	%
総数	552	100.0	253	100.0	299	100.0
0 - 29 歳	21	3.8	7	2.8	14	4.7
30 - 39 歳	24	4.3	5	2.0	19	6.4
40 - 49 歳	47	8.5	14	5.5	33	11.0
50 - 59 歳	81	14.7	37	14.6	44	14.7
60 - 69 歳	137	24.8	68	26.9	69	23.1
70 - 79 歳	150	27.2	78	30.8	72	24.1
80 歳以上	92	16.7	44	17.4	48	16.1
認定	383	100.0	197	100.0	186	100.0
0 - 29 歳	0	0.0	0	0.0	0	0.0
30 - 39 歳	0	0.0	0	0.0	0	0.0
40 - 49 歳	2	0.5	1	0.5	1	0.5
50 - 59 歳	51	13.3	28	14.2	23	12.4
60 - 69 歳	121	31.6	63	32.0	58	31.2
70 - 79 歳	130	33.9	65	33.0	65	34.9
80 歳以上	79	20.6	40	20.3	39	21.0
未認定	169	100.0	56	100.0	113	100.0
0 - 29 歳	21	12.4	7	12.5	14	12.4
30 - 39 歳	24	14.2	5	8.9	19	16.8
40 - 49 歳	45	26.6	13	23.2	32	28.3
50 - 59 歳	30	17.8	9	16.1	21	18.6
60 - 69 歳	16	9.5	5	8.9	11	9.7
70 - 79 歳	20	11.8	13	23.2	7	6.2
80 歳以上	13	7.7	4	7.1	9	8.0

表2 検診の所見区分

検診票	項目	所見有
内科	自覚症状	＋、＃
	他覚所見	正常、純、一、なし以外
皮膚科	問診	有
	他覚所見 ^{*1}	＋、＃、冊
眼科	主訴	＋、＃、冊
	他覚所見	＋、＃、冊
歯科	主訴	有
	口腔所見	有
	色素沈着所見 ^{*2}	＋、＃、冊

*1 いずれかの部位に所見が認められれば、所見有とした。

*2 上歯肉、下歯肉を歯肉、右頬粘膜と左頬粘膜を頬粘膜、上唇粘膜と下唇粘膜を唇粘膜とした。

表3 内科検診の有所見率（2024年度）

	全体	男性	女性
自覚症状			
認定			
全身倦怠感	70.1% (267/381)	66.3% (130/196)	74.1% (137/185)
頭重・頭痛	45.5% (173/380)	36.4% (71/195)	55.1% (102/185)
咳嗽	46.5% (177/381)	44.9% (88/196)	48.1% (89/185)
喀痰	43.0% (164/381)	48.5% (95/196)	37.3% (69/185)
腹痛	29.9% (114/381)	27.6% (54/196)	32.4% (60/185)
下痢	34.1% (130/381)	37.2% (73/196)	30.8% (57/185)
便秘	42.8% (163/381)	38.3% (75/196)	47.6% (88/185)
しびれ感	58.5% (223/381)	56.1% (110/196)	61.1% (113/185)
関節痛	64.8% (247/381)	60.7% (119/196)	69.2% (128/185)
月経異常	1.1% (1/93)	.	1.1% (1/93)
未認定			
全身倦怠感	63.9% (108/169)	55.4% (31/56)	68.1% (77/113)
頭重・頭痛	56.2% (95/169)	39.3% (22/56)	64.6% (73/113)
咳嗽	36.7% (62/169)	33.9% (19/56)	38.1% (43/113)
喀痰	31.4% (53/169)	35.7% (20/56)	29.2% (33/113)
腹痛	34.9% (59/169)	35.7% (20/56)	34.5% (39/113)
下痢	34.9% (59/169)	39.3% (22/56)	32.7% (37/113)
便秘	43.8% (74/169)	26.8% (15/56)	52.2% (59/113)
しびれ感	43.2% (73/169)	48.2% (27/56)	40.7% (46/113)
関節痛	43.8% (74/169)	39.3% (22/56)	46.0% (52/113)
月経異常	35.2% (32/91)	.	35.2% (32/91)
他覚所見			
認定			
心音	4.2% (16/381)	5.6% (11/195)	2.7% (5/186)
呼吸音	2.4% (9/381)	2.6% (5/195)	2.2% (4/186)
肝腫	0.5% (2/378)	1.0% (2/193)	0.0% (0/185)
脾腫	0.0% (0/378)	0.0% (0/193)	0.0% (0/185)
浮腫	11.3% (43/379)	6.7% (13/193)	16.1% (30/186)
リンパ節腫大	0.0% (0/377)	0.0% (0/192)	0.0% (0/185)
四肢けん反射	10.0% (38/379)	11.4% (22/193)	8.6% (16/186)
感覚障害	24.3% (92/379)	25.9% (50/193)	22.6% (42/186)
胸部レ線	28.1% (103/366)	31.4% (59/188)	24.7% (44/178)
心電図	26.4% (99/375)	29.7% (57/192)	23.0% (42/183)
未認定			
心音	3.0% (5/168)	1.8% (1/56)	3.6% (4/112)
呼吸音	1.2% (2/168)	1.8% (1/56)	0.9% (1/112)
肝腫	0.0% (0/165)	0.0% (0/54)	0.0% (0/111)
脾腫	0.0% (0/164)	0.0% (0/54)	0.0% (0/110)
浮腫	6.5% (11/168)	7.1% (4/56)	6.3% (7/112)
リンパ節腫大	0.0% (0/163)	0.0% (0/53)	0.0% (0/110)
四肢けん反射	8.9% (15/168)	7.1% (4/56)	9.8% (11/112)
感覚障害	15.5% (26/168)	17.9% (10/56)	14.3% (16/112)
胸部レ線	16.6% (27/163)	24.1% (13/54)	12.8% (14/109)
心電図	14.9% (25/168)	23.2% (13/56)	10.7% (12/112)

表4 皮膚科検診の有所見率(2024年度)

	全体	男性	女性
問診			
認定			
最近の化膿傾向	6.9 % (26/379)	7.7 % (15/195)	6.0 % (11/184)
最近の粉りゅう再発傾向	5.8 % (22/380)	7.7 % (15/195)	3.8 % (7/185)
未認定			
最近の化膿傾向	4.2 % (7/168)	3.6 % (2/56)	4.5 % (5/112)
最近の粉りゅう再発傾向	3.0 % (5/167)	3.6 % (2/56)	2.7 % (3/111)
他覚所見			
認定			
黒色面皰	18.2 % (69/380)	24.1 % (47/195)	11.9 % (22/185)
ざ瘡様皮疹	8.4 % (32/380)	8.2 % (16/195)	8.6 % (16/185)
瘢痕化	12.4 % (47/380)	10.8 % (21/195)	14.1 % (26/185)
色素沈着	3.9 % (15/380)	4.6 % (9/195)	3.2 % (6/185)
未認定			
黒色面皰	13.7 % (23/168)	14.3 % (8/56)	13.4 % (15/112)
ざ瘡様皮疹	12.5 % (21/168)	16.1 % (9/56)	10.7 % (12/112)
瘢痕化	10.1 % (17/168)	14.3 % (8/56)	8.0 % (9/112)
色素沈着	1.8 % (3/168)	1.8 % (1/56)	1.8 % (2/112)

表5 眼科検診の有所見率(2024年度)

	全体	男性	女性
主訴			
認定			
眼脂過多	4.9 % (18/371)	4.7 % (9/192)	5.0 % (9/179)
未認定			
眼脂過多	1.8 % (3/168)	0.0 % (0/56)	2.7 % (3/112)
他覚所見			
認定			
眼瞼浮腫	1.1 % (4/371)	0.5 % (1/192)	1.7 % (3/179)
眼瞼結膜色素沈着	3.2 % (12/371)	3.1 % (6/192)	3.4 % (6/179)
瞼板腺嚢胞形成	0.5 % (2/371)	0.5 % (1/192)	0.6 % (1/179)
瞼板腺チーズ様分泌物圧出	0.0 % (0/359)	0.0 % (0/189)	0.0 % (0/170)
未認定			
眼瞼浮腫	0.0 % (0/168)	0.0 % (0/56)	0.0 % (0/112)
眼瞼結膜色素沈着	1.2 % (2/168)	1.8 % (1/56)	0.9 % (1/112)
瞼板腺嚢胞形成	0.0 % (0/168)	0.0 % (0/56)	0.0 % (0/112)
瞼板腺チーズ様分泌物圧出	0.0 % (0/154)	0.0 % (0/51)	0.0 % (0/103)

表6 歯科検診の有所見率(2024年度)

	全体	男性	女性
主訴			
認定			
主訴	30.5% (90/295)	24.8% (40/161)	37.3% (50/134)
未認定			
主訴	28.9% (44/152)	32.1% (17/53)	27.3% (27/99)
口腔所見			
認定			
歯周病	53.8% (163/303)	56.3% (94/167)	50.7% (69/136)
未認定			
歯周病	43.3% (65/150)	58.8% (30/51)	35.4% (35/99)
色素沈着所見			
認定			
歯肉	31.4% (96/306)	30.5% (51/167)	32.4% (45/139)
頬粘膜	9.5% (29/306)	11.4% (19/167)	7.2% (10/139)
口蓋粘膜	5.9% (18/306)	7.2% (12/167)	4.3% (6/139)
唇粘膜	25.2% (77/306)	25.7% (43/167)	24.5% (34/139)
未認定			
歯肉	24.2% (38/157)	25.5% (14/55)	23.5% (24/102)
頬粘膜	5.1% (8/157)	3.6% (2/55)	5.9% (6/102)
口蓋粘膜	5.7% (9/157)	9.1% (5/55)	3.9% (4/102)
唇粘膜	17.2% (27/157)	25.5% (14/55)	12.7% (13/102)

分担研究報告書

油症患者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル異性体分析におけるナローボアカラムの検討

研究分担者	戸高 尊	公益財団法人北九州生活科学センター	課長
研究協力者	上原口 奈美	公益財団法人北九州生活科学センター	主任
	広瀬 勇氣	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員
	柿本 理沙	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員
	市村 清隆	公益財団法人北九州生活科学センター	理事長

研究要旨 油症患者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)の分析は、電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (GC-ECD) を用いて行っている。前年度、通常用いるカラムより径の細いナローボアカラムを用いて、PCQ 異性体の分離および測定感度の改善に関して検討を行ったが、従来法よりも高精度および高感度な分析法を確立するまでに至らなかった。今年度も、ナローボアカラムを用いて検討を行ったが、期待される結果は得られなかったため、従来使用していたカラムを用いて、注入口部のライナーの比較検討を行った。その結果、従来法よりも高感度な分析法を確立した。令和 8 年 4 月、新しいガスクロマトグラフ高分解能質量分析装置が北九州生活科学センターに納品され、現在、装置の立ち上げ中である。この装置により、従来の方法よりも高精度・高感度なダイオキシン分析法およびポリ塩化ビフェニルの異性体分析法の検討が可能となる。

A. 研究目的

ポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)は熱媒体として使用されたポリ塩化ビフェニル(PCB)が高温・高圧の条件下に曝され、二つの PCB 分子が結合した化合物で、6 種類の基本構造を持ち、異性体の数は数万種あると考えられている。

PCQ は油症患者が摂取したライスオイル中に高濃度に含まれていたことが報告されている。そのため、血液中 PCQ 濃度は油症の診断基準に追加され、現在も油症に特徴的かつ有用な基準の一つになっている。

PCQ の分析法は、PCQ の完全塩素化物である十八塩素化クアテルフェニル(ODCQ)として電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (GC-ECD) で定量する方法が確

立されている。さらに、キャピラリーカラムを用いた分析法が開発され¹⁾、その方法を用いて、油症患者血液中の PCQ 分析が行われてきた。

昨年度、従来法よりも高精度および高感度な分析を行うために、内径の細いナローボアカラムを用いて、PCQ 異性体の分離および測定感度に関して検討を行ったが、分析法を確立するまでに至らなかった。今年度も、ナローボアカラムを用いて検討を実施し、試料注入口部のライナーに関しても検討も行い、高感度な分析法を確立する。

B. 研究方法

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (GC-ECD) は島津製作所社製 Nexis

GC-2030 (^{63}Ni -ECD) を使用した。従来使用していた分析カラムは、Quadrex 社製 007-65HT-25 (長さ 25m、内径 0.25mm、膜厚 $0.1\mu\text{m}$) を使用してきた。今回、分析カラムとし、Quadrex 社製 007-65HT-25HS (長さ 25m、内径 0.18mm、膜厚 $0.1\mu\text{m}$) を用いて測定法に関する検討を行った。昇温は、 80°C で 2 分間保持した後、 300°C まで 1 分間に 30°C の割合で昇温後 30 分間保持の条件化で行った。注入口温度と検出器温度は、それぞれ 300°C および 340°C で、キャリアガスとしてヘリウムを、メイクアップガスとして窒素を用いた。6 種類の ODCQ は、2, 2' -ODCQ, 2, 3' -ODCQ, 2, 4' -ODCQ, 4, 4' -ODCQ, 3, 3' -ODCQ および 3, 4' -OCDF で、これら異性体の一斉分析を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究の結果においては、個人が特定できるようなデータは存在しない。

C. 研究結果・考察

電子捕獲型検出器 (ECD) は、 ^{63}Ni の放射線源を使用した検出器で、有機ハロゲン化合物や有機金属化合物に高感度である。主にハロゲンを含む化合物が高感度で検出できるので、その原理に基づいて PCQ の分析に用いられている。

昨年度、通常用いるカラムより内径の細いナローボアカラムを用いて、PCQ 異性体の分離および感度面に関する検討を行ったが、従来法よりも高感度な分析法を確立することができなかった。ナローボアカラムを用いた場合、従来使用しているカラムより試料注入口部の圧力が 2 倍以上高くなり、試料導入が効率的に行われていない可能性が示唆された。この問題の解決策として、試料の導入方法、He ガスの流量および線速度を最適化す

る検討を行ったが、全く改善されなかった。今年度は、注入口部のライナーを、シングルテーパーライナー ($3.5\text{mm} \times 95\text{mm}$) からストレートライナー ($3.5\text{mm} \times 95\text{mm}$) に変更して検討を試みたが、注入口部の圧力および線速度は、前ライナー使用時と同様な値を示した。市販品で、径が 3.5mm 以上のライナーは市販されてなく、再度検討しても注入口部の圧力を抑制できる可能性は低いので、この測定装置を用いて、内径の細いナローボアカラムで PCQ 異性体の分析法を検討するのは不可能だと判断した。

従来使用していたカラムを用いて、シングルテーパーライナーとストレートライナー使用時における PCQ 異性体の分離および測定感度に関して比較を行った。その結果、PCQ 異性体の分離に関しては、ほとんど同程度であったが、測定感度に関しては、同じ電流値設定の条件下、ストレートライナー使用時の方がシングルテーパーライナー使用時よりピーク強度が約 2 倍増大した (図 1)。

D. 結論

昨年度の結果を踏まえて、今年度は注入口部の圧力を抑制させるために、ライナーを変更して検討を試みたが、結果は前年度と同様であった。従来使用していたカラムを用いて、ライナーの比較を行った結果、ストレートライナー使用時の方がシングルテーパーライナー使用時よりピーク強度が約 2 倍増大した。

今後、今回検討した方法を用いて、油症患者の中で、血液中 PCQ 濃度の高い患者の血液中 PCQ 濃度を測定し、従来法との妥当性評価を行う。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) ○Hori T, Tobiishi K, Yasutake D, Shintani Y, Furutani T, Takao Y, Todaka T, Hirose Y, Katsuki S, Tsuji G. Blood dioxin concentrations and their tendencies examined in family members living with certificated Yusho patients and considered as Yusho patients. Fukuoka Igaku Zasshi, 2023;14(1): 10-16.

2. 学会発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

参考文献

- 1) 芦塚由紀、中川礼子、平川博仙、堀就英、梶原淳睦、飯田隆雄、吉村健清：2005 年度油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析。福岡医誌 98：232-235,

カネミ油症患者へのオンライン診療確立ならびに漢方動画視聴率向上に関する研究

研究分担者 貝沼茂三郎 富山大学学術研究部医学系和漢診療学講座教授

研究要旨 オンライン診療に内在する課題に対し、担当医による継続的な研鑽および定期的な陪席診療を実施することで、診療所見の確認および補正が可能となり、漢方専門家の知見を診療へ適切に反映できるオンライン診療体制を維持・強化することができた。さらに、油症患者に対する漢方医療に関する情報発信として、会報誌や検診会場での紹介を行った結果、油症患者向け動画コンテンツの視聴機会拡大に寄与した可能性が示唆された。

A. 研究目的

本研究の目的は、漢方専門医との連携によるオンライン診療の課題を明らかにし、診療精度および患者満足度の向上を図るとともに、患者向け漢方 WEB セミナー動画の情報発信方法を工夫し、その視聴率の変化を指標として有効性を検証することである。

B. 研究方法

①オンライン診療の確立

長崎県五島中央病院油症外来での診察に3ヶ月ごとにオンライン同席と現地での診察に同席し、漢方医学的な所見の取り方の指導や漢方処方を選択に関して指導を行う。またオンライン診療を行う中での問題点を抽出する。

②油症患者に対する漢方の情報発信に関する研究

九州大学カネミ油症ダイオキシン研究診療センターホームページ上で公開している油症患者向けの動画を油症ニュースでの案内、検診会場での DVD 上映などを行い、情報発信を行った。

(倫理面への配慮)

この臨床研究は富山大学附属病院倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

<①オンライン診療の確立>

五島中央病院油症外来での診療実績は下記のように陪席が3回、オンライン同席が2回であった。

① 令和7年4月4日陪席 受診者5名

② 令和7年6月27日オンライン同席
受診者6名(新患1名)

③ 令和7年9月12日陪席 受診者6名

④ 令和7年12月12日オンライン同席
受診者6名

⑤ 令和8年3月31日陪席 受診者4名
これまで新患はいずれも指導医が陪席している際に受診していたが、本年度は初めて、6月のオンライン同席時に新患1名の受診があった。診療に際しては、担当医師による問診の内容をオンライン上で共有し、その過程を拝聴したうえで、漢方医学的観点から不足していると考えられた事項について、追加の確認を行った。また、担当医師が実施した脈診および腹診によって得られた所見についても共有された。当該患者については、約3か月後に指導医が陪席し、再度共同で診察を行った。その結果、漢方医学的所見に関しては、指導医と担当医師の評価は概ね一致していることが確認された。一方、処方内容の選択については、オンライン同席を行った指導医

が最終的に決定した。

なお、その他の患者においても、漢方医学的所見については指導医と担当医師の間で概ね一致が認められたが、処方継続の可否や処方変更の判断については、いずれも指導医が決定した。

＜担当医師（赤羽目翔悟医師）からの報告書＞オンライン診療における課題として、以下の点が挙げられた。

1. 脈診・腹診等の触診所見を直接共有できないこと
2. 所見の正確性や伝達方法の違いが、処方判断に影響を及ぼす可能性があること
3. 得られた所見の妥当性を評価することが難しいこと

一方、これらの課題に対する対応策および工夫として、以下の取り組みが示された。

1. 診察技能向上を目的とした継続的な研鑽（書籍やWeb教材を用いた学習、Webおよび対面形式のセミナーへの参加、日常診療における漢方診察機会の拡大）
2. 定期的な実地診療への参加による、診察所見の妥当性確認および補正

＜②油症患者に対する漢方の情報発信＞

＜5分で解決漢方薬の疑問シリーズ＞

として5つの動画を作成し、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センターのHPで動画を視聴できるようにしていた。

- ①漢方薬はどこから来たの？
- ②風邪には葛根湯！？ 効果的な飲み方
- ③患者さんが飲んでいる漢方薬 第3位 大建中湯
- ④患者さんが飲んでいる漢方薬 第2位 桂枝茯苓丸
- ⑤患者さんが飲んでいる漢方薬 第1位 芍薬甘草湯

今年度は、これらの動画をより多くの油症患者に視聴してもらうため、複数の取り組みを行った。まず、各都道府県の担当者に対して、6月に開催された班会議を通じて動画に関する情報提供を行った。さらに、8月には全国の患者向け会報誌である「油

症ニュース」において、DVD動画の紹介を行った。

また、長崎検診会場（7～8月、4日間）および福岡検診会場（8～9月、3会場・計5日間）においても、DVD動画の紹介を実施した。特に福岡検診会場では、待ち時間を活用してDVDの放映を行い、約100名の検診受診者が動画を視聴した。

さらに、動画視聴後に興味を示した10名の患者に対して後日DVDを送付し、6名からアンケートを回収することができた。アンケート結果の詳細は下記に記すが、全体として概ね好評であり、そのうち1名は実際に油症外来の受診につながった。

＜70代男性＞大変勉強になりました。漢方の歴史、葛根湯の飲み方など。

＜70代女性＞分かりやすくおもしろい、もっと見たい。

＜70代女性＞知識がなかったのでためになった。

＜70代女性＞知らないことが知れてよかった。久しぶりに漢方薬をためそうかな。
＜70代女性＞病気の症状に対してわかりやすく漢方薬が選べると思った。副作用が怖くて手が出なかった。身体にやさしいなら是非ためしてみたい。

＜50代女性＞内容はわかりやすかった。
また動画の視聴回数は、2025年3月27日時点では、①90回、②51回、③18回、④7回、⑤17回であったが、2026年4月5日時点では、それぞれ①169回、②82回、③46回、④29回、⑤39回へと増加しており、継続的な情報発信や検診会場での紹介が視聴機会の拡大に寄与した可能性が示唆された。

D. 考察

昨年度に引き続き、オンライン同席と陪席診療を併用することで、地理的制約を超えて漢方専門家の知見を診療に反映できる体制を維持・強化することができた。オンライン同席では、脈診・腹診などの触診

所見を直接共有できない点や、所見の正確性が処方判断に影響する可能性が課題として認識されたが、担当医による継続的な研鑽と定期的な陪席診療により、所見の確認および補正が可能であった。その結果、漢方医学的所見に関しては、担当医と専門指導医の評価は概ね一致しており、オンライン環境下においても一定水準以上の診療の質が担保できることが示された。

また、本年度は初めてオンライン同席下で新患対応を実施し、その後の対面診療においても所見の整合性が確認されたことから、オンライン同席は新患診療にも有用であることが示唆された。一方、最終的な処方判断は引き続き専門指導医が担う体制とすることで、診療の安全性と質を確保しており、オンライン同席を補完的に活用する運用モデルの有効性が確認された。

さらに、今回の新患対応の経験を踏まえ、漢方治療を希望しながらも近隣に専門医がないため受診が困難なカネミ油症患者を対象に、触診が制限される状況下でも実施可能なオンライン診療システムの確立を目指したい。

漢方に関する情報発信については、今年度はホームページでの情報提供に加え、会報誌での紹介および検診会場等における動画視聴環境の整備を行った。その結果、動画の視聴回数は明確に増加し、動画を視聴した患者への聞き取り調査においても、多くの好意的な評価が得られた。

今後は、患者がより身近に漢方について考え、疑問を解消できるよう、「5分で解決 漢方薬の疑問シリーズ」といった短時間で理解しやすい新規コンテンツを作成し、継続的な配信を行う予定である。

さらに、次年度に実施予定の実態調査アンケートの結果を踏まえ、動画視聴が漢方治療に対する意識変化や、漢方治療受診者数の増加に寄与しているかについて検証を進めていく。

また、今年度は患者数の多い長崎地区では

動画の紹介にとどまったが、今後は福岡会場と同様に、検診会場での待ち時間を活用した動画視聴環境を整備し、さらなる漢方情報の発信に取り組んでいきたい。

E. 結論

油症外来において、オンラインを活用した漢方専門家の診療参加の取り組みについて、その課題および改善策を検討した。併せて、会報誌や検診会場における動画配信を通じて、漢方治療に関する情報発信を行った。今後は、これらの取り組みを継続・発展させることで、より多くの油症患者に漢方治療の恩恵を届けていきたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

油症暴露による継世代健康影響に関する研究

－油症 2 世、3 世における婦人科関連症状－

研究分担者 加藤 聖子 九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学分野 教授

研究協力者 諸隈 誠一 九州大学大学院医学研究院保健学部門 教授

研究協力者 濱田 律雄 九州大学環境発達医学研究センター 特任助教

研究要旨 カネミ油症患者より出生した油症2世・3世（20歳以上・初経経験者）を対象に、婦人科関連症状の包括的検討を行った。油症2世109名・油症3世5名の計114名を解析対象とした。初経年齢（2世12.1±1.6歳、3世12.2±0.8歳）は日本人女性の平均初経年齢12.23歳と同程度であり、自然閉経年齢（2世50.2±2.4歳）は一般集団の報告値（中央値50.54歳）と同程度であった。早発閉経例は認められなかった。月経不順（2世27.5%、3世40.0%）、多嚢胞性卵巣症候群（PCOS、2世11.0%）、子宮内膜症（2世15.6%、3世40.0%）は一般集団の報告値と比較して高い傾向が認められた。子宮・卵巣手術を要した症例は油症2世9名で、子宮体がん・子宮筋腫（各3名）、子宮内膜症・子宮腺筋症・卵巣出血（各1名）であった。不妊治療歴は2世の20.2%に認められ、ART施行率は治療群の45.5%であった。油症2世において早産（37週未満）14.7%（5/34件）、低出生体重（2500g未満）14.3%（6/42件）が認められ、いずれも本邦一般集団の報告値を上回る傾向を示した。ただし症例数が限られており、油症暴露との関連については今後の継続的な検討が必要である。

A. 研究目的

ダイオキシン類などの化学物質曝露が次世代の健康に及ぼす継代的影響への関心は世界的に高まっている。ダイオキシン類はホルモン様作用を有することから、生殖機能への影響が危惧されている¹⁾。

令和6年度報告では油症2世・3世における初経年齢・閉経年齢・月経不順・PCOSを中心に報告した。令和7年度は対象を20歳以上・初経経験者に限定し、解析を油症2世・3世別に行うとともに、子宮内膜症・手術を要した疾患の詳細・不妊治療歴・妊娠分娩転帰（早産・低出生体重を含む）についても検討を行った。

B. 研究方法

1. 対象：令和7年度油症検診時の次世代調査票より、20歳以上かつ初経を経験した女性114名（油症2世109名・油症3世5名）を解析対象とした。

2. 方法：以下の項目について油症2世・3世別に解析した。

・月経関連：初経年齢、月経不順、月経量異常

・婦人科疾患：多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）、子宮内膜症

・閉経：自然閉経年齢、手術・治療による閉経†（疾患内訳を含む）、早発閉経（40歳未満）の有無

†調査票の設問分類に基づく。厳密な閉経（12か月以上の月経停止）のほか、薬物療法による一時的月経停止を含む

・不妊治療：治療歴・治療種別（一般不妊治療・ART）・妊娠分娩転帰

・妊娠分娩歴：妊娠歴・流産歴・分娩歴・分娩週数（早産の有無）・出生体重（低出生体重の有無）

（倫理面への配慮）

本研究は、九州大学医系地区部局臨床研究

倫理審査委員会「カネミ油症の実態調査」(許可番号 30-384)の承認を経て実施した。

C. 研究結果

1. 油症2世・3世別の月経・婦人科疾患・閉経に関する臨床像(表1) :

油症2世・3世別の臨床像を表1に示す。油症2世(n=109)の年齢中央値(範囲)は42(24-56)歳、油症3世(n=5)は27(21-33)歳であった。初経年齢(平均値±SD)は油症2世12.1±1.6歳、油症3世12.2±0.8歳であった。月経不順は油症2世30名(27.5%)、油症3世2名(40.0%)に認められ、月経量異常は油症2世26名(23.9%)、油症3世3名(60.0%)であった。PCOSは油症2世12名(11.0%)、油症3世0名(0%)、子宮内膜症は油症2世17名(15.6%)、油症3世2名(40.0%)に認められた。自然閉経は油症2世13名に認められ、自然閉経年齢(平均値±SD)は50.2±2.4歳であった。手術・治療による閉経は油症2世16名、油症3世1名で、うち手術(子宮・卵巣摘出等)を要したものは油症2世9名であった。

2. 油症2世の曝露状況(表2) :

油症2世(n=109)の曝露状況を表2に示す。両親曝露12名(11.0%)、母のみ曝露53名(48.6%)、父のみ曝露44名(40.4%)であった。

3. 手術を要した疾患の内訳(表3) :

手術・治療による閉経17名の内訳の詳細を表3に示す。手術を要した油症2世9名の疾患は、子宮体がん3名(子宮全摘・卵巣摘出含む)、子宮筋腫3名(子宮全摘)、子宮内膜症1名(子宮全摘・卵巣摘出)、子宮腺筋症1名(子宮全摘)、卵巣出血1名(止血術)であった。薬物療法による月経停止は油症2世5名・油症3世1名の計6名であった。詳細不明(理由・術式の記載なし)は油症2世2名であった。

4. 不妊治療の詳細(表4) :

不妊治療歴は油症2世の20.2%(22/109名)

に認められた(油症3世:0名)。不妊治療群22名(全員2世)の詳細を表4に示す。一般不妊治療(排卵誘発・タイミング法・人工授精)は18名(81.8%)、ART(体外受精・顕微授精等)は10名(45.5%)に施行された。一般不妊治療開始年齢(平均値±SD)は32.9±5.4歳(n=17)、ART開始年齢は35.3±6.8歳(n=9)であった。背景疾患としてPCOS合併5名(22.7%)、子宮内膜症合併7名(31.8%)を認めた。転帰として妊娠なし5名(22.7%)、妊娠あり17名(77.3%)で、うち分娩あり9名(40.9%)、分娩なし8名(36.4%)であった。

5. 妊娠・分娩転帰・早産(表5) :

妊娠・分娩転帰を油症2世・3世別に表5に示す。妊娠歴は油症2世63名(57.8%)、油症3世2名(40.0%)に認められた。流産歴は油症2世7名(11.1%)であった。分娩歴は油症2世25名(22.9%)に認められ、油症3世では認められなかった。油症2世において分娩週数が記録された34件の平均(±SD)は38.5±1.9週で、37週未満の早産は5件(14.7%)であった。出生体重が記録された42件の平均(±SD)は2958±475gで、低出生体重(2500g未満)は6件(14.3%)であった。

D. 考察

令和7年度は解析を油症2世・3世別に行い、手術を要した疾患の内訳・早産・低出生体重を含む妊娠分娩転帰の検討を加えた。

初経年齢(2世12.1±1.6歳、3世12.2±0.8歳)は、大阪大学による第12回全国初潮調査(2011年)における日本人女性の平均初潮年齢12.23歳²⁾と同程度であった。自然閉経年齢(2世50.2±2.4歳)は、玉田らの報告による日本人女性の自然閉経中央値50.54歳³⁾と同程度であり、閉経に対する油症曝露の明らかな影響は認められなかった。なお、SevesoのTCDD高濃度曝露女性を対象としたEskenaziらのコホート研究⁴⁾では、一部の曝露濃度群で早期閉経リスクの上昇傾向がみられたが、全体として統計学的有意差は認めら

れなかった。今回の検討でも油症 2 世において早発閉経例は認めなかった。

PCOS は日本産科婦人科学会の診断基準検証報告において生殖年齢女性の 5～8%に認められるとされる⁵⁾が、油症 2 世では 11.0%と高い傾向を示した。PCB への曝露が AhR 活性化や内分泌かく乱作用を介してインスリン抵抗性・アンドロゲン過剰を誘導し、PCOS を増加させる等の可能性が報告されており⁶⁾、カネミ油症の次世代においても類似の経路が関与している可能性が考えられる。子宮内膜症は生殖年齢女性の約 10%に認められるとされており⁷⁾、油症 2 世の 15.6%は一般集団より高い傾向にあった。油症 3 世では 40.0%とさらに高い傾向が認められたが、n=5 と症例数が限られるため慎重な解釈が必要である。いずれの疾患も自己申告に基づくものであり、診断未確定例の除外による過小評価の可能性もある。

手術・治療による閉経として調査票に記録された 17 名の内訳は、手術を要した者は油症 2 世 9 名（子宮体がん・子宮筋腫各 3 名、子宮内膜症・子宮腺筋症・卵巣出血各 1 名）、薬物療法による閉経は油症 2 世 5 名・油症 3 世 1 名の計 6 名、詳細不明（理由・術式の記載なし）が 2 名であった。薬物療法による閉経は厳密な閉経とは異なり一時的な月経停止を含むため、この区別は今後の解析において留意する必要がある。

不妊治療率（2 世 20.2%）は一般夫婦の治療経験率（22.7%、2021 年⁸⁾）と同程度であった。PCOS および子宮内膜症の合併率がそれぞれ 22.7%および 31.8%と高く、これらが不妊の背景因子として関与している可能性が示唆される。なお、妊娠ありで分娩に至らなかった 8 名のうち 7 名は分娩転帰に関する回答がなく、流産の実態については過小評価の可能性もある。

早産（37 週未満）は油症 2 世の分娩 34 件中 5 件（14.7%）、低出生体重（2500g 未満）は 42 件中 6 件（14.3%）に認められた。本邦の早産率は概ね 5%前後、低出生体重児出生割

合は約 9%とされており⁹⁾、本集団では数値上高い傾向がみられる。ただし症例数が限られており、双胎・既往疾患等の交絡因子の検討も不十分であることから、現時点でこれらを油症曝露との関連として断定することは難しく、今後の症例蓄積を通じた慎重な検討が必要である。油症 3 世は分娩に関する回答がなく、今後の調査が重要である。

なお、油症 3 世は n=5 と極めて症例数が限られており、今回の数値は参考値として示すにとどまる。継続的な症例の追跡が求められる。

E. 結論

令和 7 年度の油症次世代調査において、油症 2 世・3 世別の婦人科関連指標の包括的解析を行った。初経年齢・自然閉経年齢は一般集団と同程度であった。PCOS および子宮内膜症の頻度は高い傾向を示し、手術を要した主な疾患は子宮体がん・子宮筋腫であった。不妊治療を要した割合は 2 世の 20.2%であった。油症 2 世において早産（14.7%）および低出生体重（14.3%）の割合が一般集団と比較して高い傾向がみられたが、症例数が限られており、油症曝露との関連については今後の継続的な検討が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

The effects of 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF on ovarian reserve in the second-generation of Yusho patients

Norio Hamada, Yumiko Taura, Shoko Tomonobe, Keiko Kawamura, Natsuko Yokota, Teruhiko Kawamura, Akiko Isobe, Kiyoko Kato

IFFS World Congress 2025

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 参考文献

- 1) Ulbrich B, et al. Developmental toxicity of polychlorinated biphenyls (PCBs): a systematic review of experimental data. Arch Toxicol. 78: 483-487, 2004.
- 2) 日野林俊彦ら（大阪大学）：第12回全国初潮調査結果. 内閣府男女共同参画局資料. 2021.
- 3) 玉田太朗, 岩崎寛和：本邦女性の閉経年齢. 日本産科婦人科学会雑誌. 47(9): 947-952, 1995.
- 4) Eskenazi B, et al. Serum dioxin concentrations and age at menopause. Environ Health Perspect. 113(7): 858-862, 2005.
- 5) 松崎利也, 岩佐武, 岩瀬明ら. 本邦における多嚢胞性卵巣症候群の診断基準の検証に関する小委員会（令和3年度）検討結果報告. 日本産科婦人科学会雑誌. 75: 624-631, 2023.
- 6) Yang Q, et al. Association of serum levels of typical organic pollutants with polycystic ovary syndrome (PCOS): a case-control study. Hum Reprod. 30(8): 1964-1973, 2015.
- 7) Kinoshita H, et al. Obstetrical complications in women with endometriosis: a cohort study in Japan. PLoS One. 11(12): e0168476, 2016.
- 8) 国立社会保障・人口問題研究所. 第16回出生動向基本調査. 2021.
- 9) 厚生労働省. 令和5年（2023）人口動態統計.

表1 油症2世・3世別の婦人科関連指標（20歳以上・初経経験者）

	油症2世 (n=109)	油症3世 (n=5)
年齢 中央値（範囲）歳	42（24-56）	27（21-33）
初経年齢 平均値±SD 歳	12.1±1.6	12.2±0.8
月経不順 n（%）	30（27.5%）	2（40.0%）
月経量異常 n（%）	26（23.9%）	3（60.0%）
多嚢胞性卵巣症候群 n（%）	12（11.0%）	0（0%）
子宮内膜症 n（%）	17（15.6%）	2（40.0%）
自然閉経年齢 平均値±SD 歳	50.2±2.4（n=13）	なし
手術・治療のため閉経† n	16	1
手術（子宮・卵巣摘出等） n	9	0
薬物療法による月経停止 n	5	1
詳細不明（理由・術式の記載なし） n	2	0

†調査票の設問分類に基づく。厳密な閉経（12か月以上の月経停止）のほか、薬物療法による一時的月経停止を含む

表2 油症2世の曝露状況（n=109）

曝露状況	両親曝露	母のみ曝露	父のみ曝露
油症2世 (n=109)	12（11.0%）	53（48.6%）	44（40.4%）

表3 手術を要した疾患内訳（油症2世9名、3世該当なし）

手術を要した疾患	油症2世 (n=9)
子宮体がん（子宮全摘・卵巣摘出含む）	3名
子宮筋腫（子宮全摘）	3名
子宮内膜症（子宮全摘・卵巣摘出）	1名
子宮腺筋症（子宮全摘）	1名
卵巣出血（止血術）	1名
計	9名

表4 不妊治療の詳細（不妊治療歴あり 22 名、全員油症 2 世）

項目	不妊治療群（n=22、全員油症 2 世）
一般不妊治療あり n (%)	18 (81.8%)
ART（体外受精・顕微授精等）あり n (%)	10 (45.5%)
一般不妊治療開始年齢 平均値±SD 歳	32.9±5.4 (n=17)
ART 開始年齢 平均値±SD 歳	35.3±6.8 (n=9)
PCOS 合併 n (%)	5 (22.7%)
子宮内膜症合併 n (%)	7 (31.8%)
妊娠なし n (%)	5 (22.7%)
妊娠あり n (%)	17 (77.3%)
分娩あり n (%)	9 (40.9%)
分娩なし（分娩転帰詳細不明含む）* n (%)	8 (36.4%)

*妊娠あり→分娩なし 8 名のうち 7 名は分娩転帰に関する回答なし

表5 妊娠・分娩転帰（油症 2 世・3 世別）

項目	油症 2 世 (n=109)	油症 3 世 (n=5)
妊娠歴あり n (%)	63 (57.8%)	2 (40.0%)
妊娠者中 流産歴あり n (%)	7 (11.1%)	0 (0%)
分娩歴あり n (%)	25 (22.9%)	0 (0%)
分娩週数 平均値±SD 週	38.5±1.9 (n=34)	記録なし
早産（妊娠 37 週未満） n (%)	5 (14.7%)	記録なし
出生体重 平均値±SD g	2958±475 (n=42)	記録なし
低出生体重（<2500g） n (%)	6 (14.3%)	記録なし

分担研究報告書

油症における Interleukin-1 β の検討

研究分担者 辻 博 北九州若杉病院西日本総合医学研究所 所長
研究協力者 緒方 久修 九州大学大学院医学研究院医学教育学部門 特任准教授

研究要旨 2025 年度福岡県油症一斉検診の受診者 214 例において Interleukin-1 β (IL-1 β) を測定した。IL-1 β が基準値 10 pg/mL 超の上昇を油症患者 10 例、油症患者（同居家族）2 例、未認定患者 6 例の 18 例に認めた。同居家族を含む油症患者 149 例について診定保留を含む未認定患者 65 例を対照者として、IL-1 β の上昇を認めたものは油症患者の 12 例（8.1%）、対照者の 6 例（9.2%）と出現率に差をみなかった。同居家族を含む油症患者 149 例について血中 PCB 濃度 0.5 ppb 以下の 62 例を血中 PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の 44 例を血中 PCB 高濃度群として、IL-1 β 上昇の出現頻度について検討した。IL-1 β 上昇を血中 PCB 低濃度群の 6 例（9.7%）に比較し PCB 高濃度群では 2 例（4.5%）と低い傾向を認めたが、差をみなかった。

A. 研究目的

1968 年 4 月頃よりポリ塩化ビフェニル (PCB) 混入ライスオイル摂取により北部九州を中心に発生した油症では、原因油の分析から油症の原因物質としてポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) の毒性影響が大きいと考えられる¹⁾²⁾。PCDF は、狭義のダイオキシンであるポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン (PCDD) およびコプラナー PCB とともにダイオキシン類と総称され、これらの物質の毒性は細胞質に存在する芳香族炭化水素受容体 (Ah 受容体) を介すると考えられているが、その機構の詳細は未だ不明である³⁾。油症発生以来 50 年以上が経過し種々の症状は軽快しているが、重症例においては体内の PCB 濃度が今なお高く血中 PCB の組成には未だに特徴的なパターンが認められ、慢性中毒に移行していると推定される⁴⁾⁵⁾⁶⁾。2001 年度より福岡県油症一斉検診においてダイオキシン類の測定が開始され、油症患者では未だに血中 PCDF 濃度が高値であり、PCDF の体内残留が推測される⁷⁾。

近年、PCB、ダイオキシン類が内分泌攪乱物質として正常なホルモン作用を攪乱し、生殖機能の阻害、悪性腫瘍の発生、免疫機能の低下等を引き起こす可能性が指摘されている⁸⁾⁹⁾。油症における免疫機能影響については、1996 年度福岡県油症一斉検診において血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認め油症患者における免疫機能の障害が推測される¹⁰⁾。そして、1997 年度の福岡県油症一斉検診において免疫グロブリン IgA、IgG、IgM のいずれか 1 分画以上の上昇を 40.0%に、自己抗体では抗核抗体を 45.6%と高率に認め、油症において液性免疫の障害を高頻度に認めることが報告されている¹¹⁾。

今回我々は、2025 年度福岡県油症一斉検診において自己免疫の調節に関与する Interleukin-1 β (IL-1 β)を測定し、油症における IL-1 β に対する PCB の慢性的影響について検討した。

B. 研究方法

2025 年度福岡県油症一斉検診における 15 歳以上の受診者で免疫能検査にアンケートにて同意が得られた 214 例を対象者とした。

IL-1 β は ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) 法により Human IL-1 β ELISA Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いて EMax Plus マイクロプレートリーダー (Molecular Devices) にて測定した。

PCB の測定は福岡県保健環境研究所、福岡市保健環境研究所、北九州市環境科学研究所および北九州生活科学センターで行なった。血中 PCB 濃度は 2025 年度福岡県油症一斉検診において測定した 214 例の測定値を用い、IL-1 β との関連について検討した。

結果は平均 $\pm$ 標準偏差 (mean $\pm$ S.D.) で表し、平均値の比較については t 検定で、出現頻度の比較は χ^2 検定で行なった。

C. 研究結果

2025 年度福岡県油症一斉検診における 15 歳以上の受診者で免疫検査に同意が得られた 214 例の内訳は女性 119 例、男性 95 例で、平均年齢は 62.9 $\pm$ 17.0 (16–94) 歳であり、油症患者 126 例、油症発生当時に油症患者と同居し、カネミ倉庫製の PCB 等が混入していた当時の米ぬか油を摂取した油症患者 (同居家族) 23 例、未認定患者 63 例、診定保留 2 例であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ($r=0.6040$, $P<0.001$) を認めた。

IL-1 β が基準値 10 pg/mL 超の上昇を認めたものは 18 例であった。その内訳は女性 13 例、男性 5 例で、平均年齢は 60.9 $\pm$ 16.8 (16–84) 歳であり、油症患者 10 例、油症患者 (同居家族) 2 例、未認定患者 6 例であった。

2025 年度福岡県油症一斉検診を受診した同居家族を含む油症患者 149 例について診定保留を含む未認定患者 65 例を対照者として、両群間の基準値 10 pg/mL 超の

IL-1 β 上昇を認めたものの出現頻度について検討した (表 1)。油症患者の内訳は女性 78 例、男性 71 例で、平均年齢は 70.6 $\pm$ 10.3 (49–94) 歳であり、対照者の内訳は女性 41 例、男性 24 例で、平均年齢は 45.2 $\pm$ 16.0 (16–86) 歳であった。IL-1 β が基準値 10 pg/mL 超の上昇を認めたものは同居家族を含む油症患者の 12 例 (8.1%) に認め、対照者の 6 例 (9.2%) と出現率に差をみなかった。

2025 年度福岡県油症一斉検診を受診した同居家族を含む油症患者 149 例について血中 PCB 濃度 0.5 ppb 以下の 62 例を血中 PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の 44 例を血中 PCB 高濃度群として、IL-1 β が基準値 10 pg/mL 超の上昇を認めたものの出現頻度について検討した (表 2)。血中 PCB 低濃度群の内訳は女性 29 例、男性 33 例、平均年齢は 63.4 $\pm$ 7.8 (49–88) 歳であり、血中 PCB 高濃度群の内訳は女性 29 例、男性 15 例、平均年齢は 79.3 $\pm$ 7.3 (64–94) 歳であった。血中 PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は 0.34 $\pm$ 0.10 ppb、PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 1.81 $\pm$ 1.00 ppb であった。IL-1 β の上昇を血中 PCB 高濃度群の 2 例 (4.5%) に認め、PCB 低濃度群の 6 例 (9.7%) に比較し低い傾向を認めたが、差をみなかった。

D. 考察

油症における免疫機能への影響については血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認めることが報告されている¹⁰⁾。油症発症 28 年後の 1996 年の甲状腺機能検査において、甲状腺ホルモンは血中 PCB 濃度 3.0 ppb 以上の PCB 高濃度群と 3.0 ppb 未満の PCB 低濃度群の間に差がみられなかったが、抗サイログロブリン抗体を PCB 高濃度群の 41 例中 8 例 (19.5%) と PCB 低濃度群の 40 例中 1 例 (2.5%) に比べ高頻度

に認めた。そして、1997 年度福岡県油症一斉検診において免疫機能検査として免疫グロブリンおよび自己抗体を測定し、油症患者において免疫グロブリン IgA、IgG、IgM のいずれか 1 分画以上の上昇を 40.0%に、自己抗体についてはリウマチ因子を 8.9%に、抗核抗体を 45.6%と高率に認め、液性免疫を中心とする免疫機能に対する慢性的影響が示唆された¹¹⁾。さらに、2007 年度福岡県油症一斉検診において、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子との間に正の相関を、抗核抗体を血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群に比べ高濃度群に高頻度に認め、油症における免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子の上昇、抗核抗体の出現に 2,3,4,7,8-PeCDF が関与している可能性が考えられ、液性免疫に対する 2,3,4,7,8-PeCDF の慢性的影響が示唆された¹²⁾。

油症における細胞性免疫への影響については 2008 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者において末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 PCB 濃度および血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度との関連について報告されている¹³⁾。血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球、helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞、suppressor/cytotoxic T 細胞を示す CD8 陽性細胞の間に相関はみられなかったが、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数、CD4 陽性細胞の間に相関が認められ油症患者の末梢血リンパ球、CD4 陽性細胞の増加に 2,3,4,7,8-PeCDF の関与が示唆された。また、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者において低値の患者に比べ末梢血リンパ球、helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加が認められた。

2025 年度福岡県油症一斉検診を受診した 214 例において IL-1 β を測定し基準値 10 pg/mL 超の上昇を認めたものの出現頻度について検討した。IL-1 β は単球、マク

ロファージ、好中球により産生される炎症誘発性サイトカインであり、CD4 陽性細胞を Th17 細胞へ分化増殖させることで自己免疫疾患を促進することが報告されている¹⁴⁾。また、IL-1 β は Ah 受容体を介して発現が上昇することが報告されている¹⁵⁾。そして、油症患者において IL-1 β の上昇が認められることが報告されている¹⁶⁾。2005 年に油症患者 40 例および性、年齢、居住区域をマッチさせた対照群 40 例において IL-17、IL-23、IL-1 β 、TNF α および IL-22 を測定し、対照群に比べ油症患者において IL-17、IL-23、IL-1 β および TNF α の上昇と IL-22 の低下が認められた。しかし、IL-1 β 値と血中 PCB 濃度の間に相関はみられなかった。

2025 年度福岡県油症一斉検診の受診者において IL-1 β の上昇を油症患者 10 例、油症患者（同居家族）2 例、未認定患者 6 例の 18 例に認めた。今回の検討では同居家族を含む油症患者における IL-1 β の上昇の頻度は対照者と差をみなかったが、油症患者および対照者の年齢がマッチされていないことが関与している可能性も考えられた。また、油症患者において血中 PCB 濃度 0.5 ppb 以下の血中 PCB 低濃度群と血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の血中 PCB 高濃度群の検討では、IL-1 β の上昇を認めるものの頻度は血中 PCB 高濃度群に低い傾向を認めたが、差をみなかった。油症における IL-1 β に対する慢性的影響を検討するため血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度との関連について検討が必要と考えられた。

E. 結論

2025 年度福岡県油症一斉検診の受診者 214 例（油症患者 126 例、油症患者（同居家族）23 例、未認定患者 63 例、診定保留者 2 例）において IL-1 β を測定した。IL-1 β が基準値 10 pg/mL 超の上昇を 18 例に認め、その内訳は油症患者 10 例、油症患者（同居家族）2 例、未認定患者 6 例であった。

同居家族を含む油症患者 149 例について
 診定保留を含む未認定患者 65 例を対照者
 として、IL-1 β の上昇を認めたものは油症
 患者の 12 例(8.1%)、対照者の 6 例(9.2%)
 と出現率に差をみななかった。そして、同居
 家族を含む油症患者 149 例について血中
 PCB 濃度 0.5 ppb 以下の 62 例を血中 PCB
 低濃度群、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の
 44 例を血中 PCB 高濃度群として、両群間
 の IL-1 β 上昇の出現頻度について検討し
 た。IL-1 β 上昇を血中 PCB 低濃度群の 6
 例 (9.7%) に比較し PCB 高濃度群では 2
 例 (4.5%) と低い傾向を認めたが、差を
 みななかった。

F. 参考文献

- Masuda Y, Yoshimura H : Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with Yusho and their toxicological significance : A Review. *Amer. J. Ind. Med.* 5 : 31-44, 1984.
- Oishi S, Morita M, Fukuda H : Comparative toxicity of polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 43 : 13-22, 1978.
- Gonzalez FJ, Liu SY, Yano M : Regulation of cytochrome P450 genes : molecular mechanism. *Pharmacogenetics* 3 : 51-57, 1993.
- 飯田隆男, 芥野岑男, 高田智, 中村周三, 高橋克巳, 増田義人 : ヒトの血液中におけるポリ塩化ビフェニルおよびポリ塩化クアテルフェニルについて. *福岡医誌* 72 : 185-191, 1981.
- 増田義人, 山口早苗, 黒木広明, 原口浩一 : 最近の油症患者血液中のポリ塩化ビフェニル異性体. *福岡医誌* 76 : 150-152, 1985.
- 増田義人, 原口浩一, 古野純典 : 油症患者における PCB 異性体の 30 年におたる特異な残留. *福岡医誌* 94 : 136-143, 2003.
- 飯田隆男, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和大, 松枝隆彦, 堀就英, 中川礼子, 古江増隆 : 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001 年). *福岡医誌* 94 : 126-135, 2003.
- Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP, Becker JL : Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam. Appl. Toxicol.* 21 : 433-441, 1993.
- Ohtake F, Takeyama K, Matsumoto T, Kitagawa H, Yamamoto Y, Nohara K, Tohyama C, Krust A, Mimura J, Chambon P, Yanagisawa J, Fujii-Kuriyama Y, Kato S : Modulation of oestrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor. *Nature* 423 : 545-550, 2003.
- 辻 博, 佐藤薫, 下野淳哉, 東晃一, 橋口衛, 藤島正敏 : 油症患者における甲状腺機能:油症発生28年後の検討. *福岡医誌* 88 : 231-235, 1997.
- 辻 博, 平橋高明, 緒方久修, 藤島正敏 : 油症患者における免疫機能の検討. *福岡医誌* 90 : 147-149, 1999.
- 辻 博 : 油症患者における免疫機能の検討. 熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究 平成 19 年度総括・分担研究報告書 37-39, 2008.
- 辻 博 : 油症における末梢血リンパ球亜集団の検討. *福岡医誌* 100 : 131-135, 2009.
- Sutton CE, Lalor SJ, Sweeney CM, Brereton CF, Lavelle EC, Mills KHG : Interleukin-1 and IL-23 induce innate IL-17 production from gammadelta T cells, amplifying Th17 responses and autoimmunity. *Immunity* 31 : 331-341, 2009.

15. Sutter TR, Guzman K, Dold KM, Greenlee WF : Targets for dioxin: genes for plasminogen activator inhibitor-2 and interleukin-1 β . Science 254 : 415-418, 1991.
16. Kuwatsuka Y, Shimizu K, Akiyama Y, Koike Y, Ogawa F, Furue M, Utani A : Yusho patients show increased serum IL-17, IL-23, IL-1 β , and TNF α levels more than 40 years after accidental polychlorinated biphenyl poisoning. J Immunotoxicol. 11 : 246-249, 2014.

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 油症患者および対照者における IL-1 β の上昇

	Controls	Yusho
No.	65	149
IL-1 β	6 (9.2 %)	12 (8.1 %)

表 2 油症患者における血中 PCB 濃度と IL-1 β の上昇の関連

	PCB concentration	
	≤ 0.5 ppb	≥ 1.0 ppb
No.	62	44
IL-1 β	6 (9.7%)	2 (4.5%)

分担研究報告書

気道上皮細胞における Signal regulatory protein alpha (SIRP α) の役割の検討

研究分担者 岡本 勇 九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野 教授
研究協力者 坪内 和哉 九州大学病院 呼吸器内科 診療講師
高野 智嗣 九州大学病院 呼吸器内科 助教

研究要旨 ヒト気道上皮において、Signal regulatory protein alpha (SIRP α) は中枢気道の基底細胞、特に基底膜側の最下層に位置する基底細胞で発現していた。初代ヒト気道上皮細胞において、*SIRPA* 遺伝子をノックダウンすると、EGFR シグナルの活性が低下し、創傷治癒遅延、気道障害後の炎症応答の低下、および上皮再生が障害された。基底細胞において、SIRP α は EGFR シグナルを介して気道上皮再生に関与することが明らかになり、このシグナルをターゲットとした、油症気道損傷に対する新たな治療戦略の可能性が示唆された。

A. 研究目的

油症患者における呼吸器症状としては喀痰、咳嗽、喘鳴などの気道症状が主体である。ダイオキシン類や類似の多環芳香族炭化水素により気道上皮細胞が傷害をうけ粘液（ムチン）産生過多が引き起こされている[1-4]。これまで我々は、分泌細胞に着目して研究を行い、肺サーファクタント蛋白の一つである肺サーファクタント D が杯細胞において、多環芳香族炭化水素であるベンツピレンで誘導される MUC5AC の発現を抑制することを見出した。そのメカニズムは杯細胞における Signal regulatory protein alpha (SIRP α) 経路の活性化を介していることを報告し[5]、SIRP α を介した経路は、粘液産過多による症状を有する油症の呼吸器症状の治療ターゲットになる可能性があると考え、研究を継続している。

SIRP α は骨髄系の免疫細胞に発現する膜タンパク質として広く知られているが、気道上皮細胞に発現する SIRP α の機能は十分に解明されていないため、SIRP α の気道上皮細胞における役割お

よび制御メカニズムを明らかにすることを目的に研究を行い、昨年度は SIRP α が気道上皮細胞の中でも基底細胞に発現することを見出した。引き続き SIRP α の機能解析を行った。

B. 研究方法

ヒト肺組織の免疫蛍光染色を行い、また公開されているヒト肺由来の single cell RNA-sequence のデータを用いて、ヒト肺組織における SIRP α の局在を評価した。*SIRPA* をノックダウンした初代ヒト気道上皮細胞 (HBEC) を用いて、SIRP α の機能を検討した。二次元培養に加えて、Air-Liquid Interface (ALI) 培養により気道上皮モデルを作成し、マルチカラーフローサイトメトリーおよび免疫蛍光染色で SIRP α の発現を評価し、上皮再生過程における SIRP α の役割を評価した。

C. 研究結果

ヒト肺組織の免疫蛍光染色を行ったところ、SIRP α は中枢気道の基底細胞、特に基底膜側の最下層に位置する基底

細胞に発現し、一方で末梢肺領域の気道上皮細胞では $SIRP\alpha$ の発現は認めなかった。この結果は公開されている single cell RNA-sequence の再解析でも同様の結果であり、気道上皮の中でも中枢気道の基底細胞に重要なタンパク質であると考えられた。

次に、基底細胞の特徴をもつ HBEC を用いて *SIRPA* 遺伝子の発現をノックダウンし、Bulk RNA-sequence を行い、気道上皮細胞における $SIRP\alpha$ の機能を推定した。パスウェイ解析を行うと、*SIRPA* をノックダウンした細胞においては EGFR シグナルの活性が低下し、炎症応答や上皮再生に関連する遺伝子の発現が低下していた。実際に *SIRPA* をノックダウンした HBEC においては、ERK や AKT の活性がタンパク質レベルで低下し、機能評価として Scratch assay や Migration assay を行ったところ、*SIRPA* をノックダウンした HBEC においては創傷治癒/細胞遊走能が障害されていた。また *SIRPA* をノックダウンすると、LPS や poly(I:C) によって誘導される炎症性メディエーターの産生が低下した。

HBEC は Transwell® に播種して、下層にのみ培養液を満たし、21 日間培養すること (ALI 培養) で、基底細胞から分泌細胞や線毛細胞に分化した気道上皮モデルを作成できる。作成した細胞シートを用いて免疫蛍光染色すると、 $SIRP\alpha$ はヒト肺組織と同様に基底膜側の最下層の基底細胞に発現していた。この細胞シートを単細胞化し、フローサイトメトリーで NGFR、Acetylated α tubulin、MUC5AC、CD66c、 $SIRP\alpha$ の発現を評価し、基底細胞・分泌細胞、線毛上皮細胞などにクラスター化し、細胞個々の $SIRP\alpha$ の発現を確認すると、 $SIRP\alpha$ は NGFR 陽性の基底細胞の一部で発現していた。また、*SIRPA* をノックダウンした HBEC を用いて ALI 培養を行うと、培養が途中で

破綻してしまい気道上皮モデルが作成できなかった。

D. 考察

本研究で、気道上皮において $SIRP\alpha$ は中枢気道の基底細胞に発現し、ウイルス感染などによる気道上皮傷害の後に誘導される炎症応答や上皮再生を調節していることを明らかにした。

創傷治癒の異常は気管支喘息や COPD などの気道上皮が傷害される疾患の病態形成に関与している [6]。これらの慢性気道疾患ではアレルゲンやタバコの煙によって上皮に傷害が生じると、上皮細胞の異常な修復により線毛細胞の減少や杯細胞の過形成などの構造変化 (リモデリング) を引き起こす [7]。本研究で示された $SIRP\alpha$ の炎症応答や上皮再生への関与は、これらの慢性気道疾患の病態と密接に関連している可能性がある。特に、EGFR シグナルは気道上皮の修復に重要であり、その活性低下は創傷治癒遅延を引き起こすことが報告されている [8]。本研究でも、HBEC に発現する *SIRPA* をノックダウンすることにより EGFR シグナルが低下し、炎症応答や上皮再生が障害されることから、 $SIRP\alpha$ は EGFR シグナルを維持することで適切な修復機構を支えていると考えられた。

さらには、気道上皮の分化系譜を評価できる ALI 培養系を用いた実験にて、培養系が破綻する結果を見出し、 $SIRP\alpha$ が基底細胞から様々な気道上皮細胞へ分化する過程にも影響する可能性が示唆され、今後の検討課題が明らかとなった。

E. 結論

本研究結果により、気道上皮において $SIRP\alpha$ は創傷治癒制御因子としての意義を有することが明らかになった。今後、 $SIRP\alpha$ を介した EGFR シグナル制御機構の詳細を明らかにすることで、油症によ

る呼吸器症状を含めた慢性気道疾患に対する新たな治療標的となる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第 65 回日本呼吸器学会学術講演会

2025 年 4 月 12 日 (土)

気道基底細胞に発現する SIRP α は SHP2 を介して EGFR シグナルを制御し、創傷治癒を調節する

中津留 広成、秦 兼太郎、坪内 和哉、高野 智嗣、岡本 勇

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

- 1) Låg, M., Øvrevik, et al. Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons in air pollution-induced non-malignant respiratory diseases. *Respir. Res.* 21, 299 (2020).
- 2) Sun, Y. et al. Benzo(a)pyrene induces MUC5AC expression through the AhR/mitochondrial ROS/ERK pathway in airway epithelial cells. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 210, 111857 (2021).
- 3) Gakidou, E. et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 390, 1345–1422 (2017).
- 4) Doiron, D. et al. Air pollution,

- lung function and COPD: Results from the population-based UK Biobank study. *Eur. Respir. J.* 54, (2019).
- 5) Hata K, et al. Surfactant protein D prevents mucin overproduction in airway goblet cells via SIRP α . *Sci Rep.* 2024 Jan 20;14(1):1799.
 - 6) Mottais, A. et al. Epithelial-Mesenchymal Transition Mechanisms in Chronic Airway Diseases: A Common Process to Target? *Int. J. Mol. Sci.* 24, 12412 (2023)
 - 7) Heijink, I. H. et al. Airway epithelial barrier function regulates the pathogenesis of allergic asthma. *Clin. Exp. Allergy.* 44, 620–30 (2014)
 - 8) Burgel, P. et al. Roles of epidermal growth factor receptor activation in epithelial cell repair and mucin production in airway epithelium. *Thorax.* 59, 992–996 (2004)

フェロトーシス抑制を介した潰瘍性大腸炎治療標的の解明に関する研究

研究分担者 梅野 淳嗣 九州大学大学院病態機能内科 講師

研究要旨 本研究では、油症における病態の一端を担うダイオキシン類による aryl hydrocarbon receptor (AhR) シグナルの恒常的活性化に着目し、腸上皮細胞におけるミトコンドリア機能障害およびフェロトーシスとの関連を検討した。さらに、AhR リガンドとして知られる青黛 (indigo naturalis : IN) の作用を解析し、酸化ストレス制御および細胞死制御機構への影響を評価した。その結果、IN はミトコンドリア形態および膜電位の改善、グルタチオン (GSH) の増加、脂質過酸化の抑制を介してフェロトーシスを抑制することが明らかとなり、AhR シグナル異常を背景とする病態に対する新規治療戦略の可能性が示唆された。

A. 研究目的

油症はダイオキシン類の慢性的曝露により AhR シグナルが持続的に活性化されることが特徴であり、その結果として慢性炎症、皮膚症状、消化器症状など多彩な臨床像を呈する。本研究では、AhR シグナルの過剰活性化が腸上皮細胞のミトコンドリア機能障害および酸化ストレス増大を介してフェロトーシスを誘導するという仮説を立て、その分子機序を解明することを目的とした。さらに、AhR リガンドである青黛がこれらの異常をどのように修飾するかを検討し、食品由来有害物質による健康影響に対する治療介入の基盤構築を目指した。本研究は食品安全行政におけるダイオキシン類曝露後の健康影響評価および治療法開発に資するものである。

B. 研究方法

ヒト腸上皮由来細胞株 Caco-2 を用い、erastin2 によりフェロトーシスを誘導し、青黛 (IN) 併用群との比較検討を行った。ミトコンドリア形態は透過型電子顕微鏡により評価し、膜電位は JC-1 蛍光プローブを用いて定量化した。また、細胞内酸化能の指標として還元型グルタチオン (GSH) を蛍光プローブにより測定し、脂

質過酸化は C11-BODIPY を用いて評価した。さらに、生細胞・死細胞比を蛍光染色により解析し、細胞死の程度を定量化した。これらの解析により、ミトコンドリア機能、酸化ストレス、細胞生存率の包括的評価を行った。

(倫理面への配慮)

本研究はヒト由来細胞株を用いた基礎研究であり、ヒト対象研究には該当しないため、個人情報や倫理的侵襲の問題は生じない。また、動物実験も含まれていないことから、倫理的問題はないと判断した。

C. 研究結果

電子顕微鏡観察において、フェロトーシス誘導群ではミトコンドリアの縮小、クリステの消失などの形態異常が顕著に認められた一方、IN 併用群ではこれらの異常が有意に改善されていた。

ミトコンドリア膜電位は erastin2 単独群で低下したが、IN 併用により有意に回復した。また、GSH 濃度は IN 併用群で上昇し、脂質 ROS は有意に低下した。さらに、細胞生存率の解析では、フェロトーシスによる細胞死が IN により抑制されることが確認された。

これらの結果から、IN はミトコンドリア機能維持および酸化ストレス抑制を介してフェロトーシスを抑制することが明らかとなった。

なし

D. 考察

ダイオキシン類による AhR シグナルの持続的活性化は、遺伝子発現変化を介して酸化ストレス増大やミトコンドリア機能障害を引き起こすことが知られている。本研究結果は、これらの変化がフェロトーシス感受性を高める一因となる可能性を支持するものである。

フェロトーシスは鉄依存性脂質過酸化を特徴とする細胞死であり、ミトコンドリア機能障害と密接に関連する。ミトコンドリア膜電位の低下や GSH 枯渇は脂質 ROS 増加を促進し、細胞死を誘導する。本研究において IN はこれらの変化を逆転させており、ミトコンドリア保護作用と抗酸化作用の双方を有することが示された。

また、IN は AhR リガンドとして免疫調節作用を持つことが知られているが、本研究は上皮細胞に対する直接的な細胞保護作用を示した点で重要である。すなわち、AhR シグナルは単に炎症制御に関与するのみならず、細胞内代謝および細胞死制御にも関与する可能性があり、油症の病態理解に新たな視点を提供する。

F. 研究発表

1. 論文発表

投稿準備中

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

分担研究報告書

油症検診における眼病変の追跡調査

研究分担者 園田 康平 九州大学医学研究院眼科学分野 教授
研究協力者 納富 昭司 九州大学医学研究院眼科学分野 助教

研究要旨 令和7年度油症患者の眼症状の発生およびその経過を調査した。

A. 研究目的

研究の目的は、油症患者の眼所見の把握および治療法の確立である。したがって、患者の眼症状を把握し、その症状、苦痛を除くことに関する研究である。

が必要である。

B. 研究方法

令和7年度の油症検診にて、九州大学病院眼科外来あるいは福岡県の油症一斉検診時に油症患者を診察し、眼所見および症状を把握する。

（倫理面への配慮）

本研究の解析結果においては、個人が特定できるようなデータは存在しない事を確認している。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 （予定を含む。）

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

C. 研究結果

油症患者の眼症状の発生およびその経過を調査した。眼科的所見として、眼脂過多、眼瞼浮腫、眼瞼結膜色素沈着、瞼板腺嚢胞形成、瞼板腺チーズ様分泌物圧出の5項目を検討した。

D. 考察

受診者の高齢化が進み臨床所見は少なくなっている。また、油症患者の眼科領域における臨床所見は徐々に軽くなっている。

E. 結論

今後も油症患者の眼科的所見の経過観察

油症検診受診者における角膜上皮障害

研究分担者 井上 大輔 長崎大学病院眼科 助教

研究要旨：油症患者においてはマイボーム腺機能異常から涙液層の安定性が低下する可能性がある。今回油症認定患者の涙液層破壊時間と、血中の PeCDF 濃度との関連を調査した。

A. 研究目的

角膜表面の涙液層の安定性をみる検査手法の一つとして BUT (涙液層破壊時間：Break Up Time) があり、現行の日本のドライアイ診断基準¹⁾でも採用されている。正常な角膜の表面は涙液層が覆っているが、開瞼してからこの涙液層が破れるまでの時間が BUT であり、これを計測し自覚症状などと組み合わせることで、ドライアイの有無やその程度を評価している。涙液層の安定性にはマイボーム腺から分泌される油層が重要とされるが、油症患者ではマイボーム腺機能異常から涙液層が不安定化してドライアイ状態となり BUT が短縮している可能性がある。今回の研究では油症検診受診者における BUT を計測し、ダイオキシン類とマイボーム腺機能異常の関連を検討する。

B. 研究方法

長崎県油症検診の 4 地区すなわち、玉之浦、奈留、福江、長崎地区において 2025 年度油症検診の眼科部門を受診し、かつ 2024 年もしくは 2025 年に血中 PeCDF 濃度が測定された油症検診受診者を対象とした。手持ち細隙灯顕微鏡を用いて、フルオレセイン染色した眼

の角膜の BUT 秒数 (fluorescein breakup time: FBUT) を計測した。

睫毛内反や別の角膜疾患などによる明確なドライアイ以外の BUT 変動要因がある眼や、何らかの理由 (開瞼維持困難や、診察時にソフトコンタクトレンズを装用中であったなど) によりフルオレセイン染色や結果の記録が正常に行えなかった眼は除外した。

なお、空調送風の影響により明らかに受診者らの片眼の FBUT が短縮している検診会場もあったため、FBUT は左右眼のうち秒数の長い方を採用した。こういった検診会場環境条件の制約、また測定機器や検査時間の制約などから厳密な FBUT 秒数測定は行い難かったため、FBUT 秒数そのものではなく診断基準に基づいて FBUT が 5 秒以下であったか否かを評価項目とした。

その後、この FBUT と直近の血中 PeCDF 濃度との関連を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究のデータ解析においては、個人が特定できるようなデータは存在しない。

C. 研究結果

FBUT 計測可能かつ 2024 年もしくは

2025 年に PeCDF 濃度が測定されておりデータ解析の対象となったのは 67 名（男性 38 名、女性 29 名）で、年齢は 62.0 ± 16.0 （平均±標準偏差）歳であった。そのうち、5 秒以下に短縮した FBUT を認めた対象者は 34 名 (50.7%) であった。また、同じく解析対象者における直近の血中 PeCDF 濃度は 8.72 ± 6.90 pg/g であった。

FBUT が 5 秒以下であったかを従属変数、血中 PeCDF 濃度・年齢・性別・油症患者としての認定の有無（同居患者認定は認定群とした）を説明変数として二項ロジスティック回帰分析を行った。

その結果、いずれの変数も FBUT への有意な影響を認めなかった（表 1）。

説明変数	OR	95% CI	p
PeCDF濃度	0.96	0.87-1.07	0.471
年齢	1.03	0.99-1.08	0.195
性別（女性 vs 男性）	0.57	0.20-1.62	0.291
認定の有無（未認定 vs 認定）	0.44	0.09-2.11	0.305

（表 1: FBUT 5 秒以下に関連する因子の二項ロジスティック回帰分析）

D. 考察

今回、血中 PeCDF 濃度・年齢・性別・油症患者認定の有無と、FBUT の短縮との関連は認められなかった。

我々の前年の研究結果と同じく、PeCDF 濃度が高値の場合であっても、マイボーム腺やそこから分泌される油分による涙液蒸発抑制効果が障害されるわけではないことが示唆される結果である。

ただし、FBUT 測定の厳密性が低いこと

や検診会場環境の影響を受けやすいことなども本研究手法の問題点として考えられた。

今後はこの点を克服した異なる評価方法の検討が必要である。

E. 結論

今回の長崎県油症検診受診者において血中 PeCDF 濃度は涙液層破壊時間との関連は認められなかった。

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

参考文献

- 1) 島崎 潤, 横井則彦, 渡辺 仁, 天野史郎, 大橋 裕一, 木下 茂, 他; ドライアイ研究会: 日本のドライアイの定義と診断基準の改訂(2016 年版). あたらしい眼科 34: 309-313, 2017.

ポリ塩化ビフェニルとインターロイキン 8 (IL-8) の関係についての文献的考察

研究分担者 緒方 英紀 九州大学病院 脳神経内科 助教

研究要旨 ポリ塩化ビフェニル (PCB) などのダイオキシン類は四肢の感覚障害を引き起こすことが知られているが、その機序は未解明である。本研究では、炎症性サイトカインであるインターロイキン 8 (IL-8) に着目し、PCB と IL-8 の関連について後方視的に文献検討を行った。その結果、多くの報告で PCB 曝露により IL-8 発現の上昇が認められ、ポリニューロパチーを合併したカネミ油症症例における IL-8 の評価が病態解明の手がかりとなる可能性が示唆された。

A. 研究目的

ポリ塩化ビフェニル

(polychlorinated biphenyls : PCB) をはじめとするダイオキシン類は、四肢の感覚障害を引き起こすことが知られているが、その詳細な発症メカニズムについては未だ十分に解明されていない。私たちはこれまでに、一部の自己免疫性ポリニューロパチーの脳脊髄液において、インターロイキン 8 (interleukin-8 : IL-8) 濃度が上昇していることを明らかにし、報告した¹。

PCB 誘発性ニューロパチーでも発症・進展に IL-8 が関与していると仮説を立て、研究を実施する前段階として、PCB と IL-8 の関連について後方視的な文献検索に基づき考察を行った。

B. 研究方法

PubMed で “Polychlorinated biphenyl” と “IL-8” をキーワードに論文を抽出した。

(倫理面への配慮)

本研究は文献レビューであり、個人情報や医療記録を直接扱うものではないため、原則として倫理審査の対象とはならない。しかしながら、引用・記載にあたっては、個人のプライバシーや研究倫理が侵害されることのないよう十分に配慮した。

C. 研究結果

文献検索の結果、ヒトならびにその他の哺乳類・魚類を対象とした研究 15 件が抽出された。さらに内容を確認し適当と判断された文献の概要を以下に述べる。

1. ハンプバックイルカ試料(n = 128)を用い、PCB126 の *in vitro* 免疫毒性およびそれに伴うリスクを評価した研究では、高濃度の PCB126 は皮膚線維芽細胞に細胞毒性を誘発し、炎症性サイトカイン (IL-6、IL-1 α 、TNF α) の発現を有意に上昇させた。加えて、PCB126 曝露は ICAM-1 および IL-8 の発現を上昇させ、慢性的な局所炎症への関与の可能性が示唆された²。
2. ヒト脂肪細胞に対し、異なる濃度で PCB126 (48 時間) を添加したところ、IL-6 および IL-8 の分泌が用量依存的に増加した³。
3. ヒト前駆脂肪細胞に対する PCB126 およびダイオキシン応答経路に強く干渉する低酸素状態の影響を評価するため、ヒト前駆脂肪細胞に PCB126 (10 μ M) を 3 日間曝露し、その後低酸素条件下で分化させた場合の影響について、脂肪細胞分化、グルコース取り込み、ならびに代謝および炎症関連遺伝子の発現を評価した。結果、IL-8 の発現が PCB126 曝露後に低酸素状態とした場合に上昇す

ることが示された⁴。

4. PCB に暴露したゼブラフィッシュは、対照群と比較して肝組織構造の破壊が認められ、IL-1 β 、IL-8、および TNF- α の mRNA 発現量が相対的に上昇することが報告された⁵。
5. 喘息を有する小児では、いくつかの PCB 異性体の血清中濃度が、インターロイキン(IL)-8 の mRNA 発現量と有意な正の相関を示すことが示された^{6,7}。
6. 子宮内膜に対する PCB の影響を評価した研究では、子宮内膜腺癌由来の Ishikawa 細胞を用い、ダイオキシン様 PCB である CB126 および非ダイオキシン様 PCB である CB153 に曝露させた後に、炎症および内分泌影響について評価を行った。結果、CB126 は低濃度において Ishikawa 細胞の増殖を促進した。一方、CB153 は細胞の生存率に影響を及ぼさなかった。CB126 は、インターロイキン 8(IL-8)の mRNA およびタンパク質レベルの双方においてその発現量を低下させた⁸。
7. ヒト微小血管内皮細胞 (human microvascular endothelial cells:HMECs) を特定の PCB 異性体である 2,2',4,6,6'-ペンタクロロビフェニル (PCB104) で処理したところ、IL-8 の mRNA および分泌タンパク質レベルが用量依存的に増加した。PCB104 処理 HMECs 由来の条件培地によって刺激された内皮細胞の遊走は、IL-8 中和抗体の添加により抑制された⁹。

D. 考察

一部に例外的な報告は認められるものの、PCB への曝露によって IL-8 の発現が上昇することを示した研究が大半を占めていた。IL-8 は非特異的な炎症性サイトカインではあるが、ポリニューロパチーを合併したカネミ油症症例において本分子の関与を評価することは、PCB 誘発性ニュー

ロパチーの病態解明に向けた端緒となり得ると考えられた。

E. 結論

過去の文献検討から、ダイオキシン類への曝露により IL-8 の発現が亢進する可能性が高いことが示唆された。IL-8 を介した炎症反応が PCB による神経障害の病態形成に関与している可能性があり、今後の研究テーマの一つとして検討すべき課題であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記事項なし

参考文献

1. Ogata H, Zhang X, Yamasaki R, et al. Intrathecal cytokine profile in neuropathy with anti-neurofascin 155 antibody. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019 Nov;6(11):2304-2316.
2. Sun X, Yu X, Wang N, et al. In vitro immunotoxicity and risk assessments of banned polychlorinated biphenyls exposure in Indo-Pacific humpback dolphins in the Pearl River Estuary from the northern South China Sea. *Environ Res.* 2025 Nov 15;285(Pt 1):122341.

3. Amine ZE, Mauger JF, Imbeault P. CYP1A1, VEGFA and Adipokine Responses of Human Adipocytes Co-exposed to PCB126 and Hypoxia. *Cells*. 2022 Jul 24;11(15):2282.
4. El Amine Z, Mauger JF, Imbeault P. Human Preadipocytes Differentiated under Hypoxia following PCB126 Exposure during Proliferation: Effects on Differentiation, Glucose Uptake and Adipokine Profile. *Cells*. 2023 Sep 21;12(18):2326.
5. Qamar A, Waheed J, Ghulam Mohyuddin S, et al. The Status of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Extract from Zhanjiang Mangrove Sediments and the Effects on Tissue Structure and Inflammatory Cytokines in Zebrafish Liver. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2022 May;108(5):890–900.
6. Tsuji M, Kawamoto T, Koriyama C, et al. Association of PCBs and allergies in children. *Pestic Biochem Physiol*. 2015 May;120:21–6.
7. Tsuji M, Vogel CF, Koriyama C, et al. Association of serum levels of polychlorinated biphenyls with IL-8 mRNA expression in blood samples from asthmatic and non-asthmatic Japanese children. *Chemosphere*. 2012 Jun;87(11):1228–34.
8. Chen Y, Huang Q, Chen Q, et al. The inflammation and estrogen metabolism impacts of polychlorinated biphenyls on endometrial cancer cells. *Toxicol In Vitro*. 2015 Mar;29(2):308–13.
9. Eum SY, Rha GB, Hennig B, et al. c-Src is the primary signaling mediator of polychlorinated biphenyl-induced interleukin-8 expression in a human microvascular endothelial cell line. *Toxicol Sci*. 2006 Jul;92(1):311–20.

分担研究報告書

ベンゾピレン中毒ラットに対する芍薬甘草湯と温熱療法の併用効果検討

研究分担者 申 敏哲 熊本保健科学大学、リハビリテーション学科 教授

研究協力者 吉村 恵 療法人社団温故会 直方中村病院

研究要旨 本研究は、ダイオキシン様作用を有するベンゾピレンによって誘導される末梢神経障害に対し、温熱療法および芍薬甘草湯の併用効果を、感覚機能、分子生物学的指標、および酸化ストレスの観点から検討した。感覚機能評価の結果、ベンゾピレン投与により A β 線維機能を反映する 2000 Hz 刺激に対する逃避反応閾値が上昇し、感覚鈍麻が認められた。一方、C 線維および A δ 線維に対応する低周波刺激では有意な変化は認められなかった。これらの変化は、温熱療法単独および芍薬甘草湯併用により抑制された。分子生物学的解析では、ベンゾピレン投与により AhR 経路の活性化指標である CYP1A1 の発現増加と、髄鞘関連タンパク質 MAG の発現低下が認められ、代謝ストレスおよび脱髄様変化の関与が示唆された。これらの変化も温熱療法および併用群において抑制傾向を示した。さらに、ベンゾピレン投与は酸化ストレスの増加および抗酸化能の低下を引き起こし、酸化還元バランスの破綻が確認されたが、温熱療法および芍薬甘草湯併用により抗酸化能の低下は抑制され、酸化ストレス状態の改善が示唆された。以上の結果から、ベンゾピレンによる末梢神経障害には、大径有髄線維の機能障害、脱髄様変化、および酸化ストレスの関与が示されるとともに、温熱療法は酸化還元環境および細胞内応答の調節を介して神経保護的に作用する可能性が示された。さらに、芍薬甘草湯との併用により、抗炎症・抗酸化作用が相補的に働き、神経障害の改善効果が増強される可能性が示唆された。本研究は、化学物質誘発性末梢神経障害に対する多角的介入の有効性を示す知見を提供するが、その詳細な分子機構については今後の検討が必要である。

A. 研究目的

ダイオキシン類への曝露に起因する健康障害は長期に持続し、とりわけ神経系に関連する症状は慢性化しやすいことが知られている。これらの症状には、四肢のしびれや異常感覚、疼痛などが含まれ、患者の生活の質に深刻な影響を及ぼす¹⁻⁴⁾。しかしながら、こうした神経障害に対する治療は対症療法が中心であり、確立された有効な介入法は依然として限定的である。

近年、神経障害性疼痛や感覚異常の発現機序として、末梢神経における感覚受容機構の変化が注目されている。特に、温度や機械刺激に応答する TRP (Transient

Receptor Potential) チャネルは、神経障害性疼痛の発現および増強に重要な役割を果たすことが示されている。TRPV1 や TRPV4 などの TRP チャネルは、末梢および中枢神経系に広く分布し、熱刺激や炎症、化学刺激に応答して神経興奮性を変化させることが報告されている⁵⁾。また、神経損傷後にはこれらのチャネルの発現や感受性が変化し、異常感覚や疼痛の増強に関与することが示唆されている⁶⁾。

一方で、神経障害に対する治療戦略としては、薬物療法に加え、非薬物療法の重要性が近年再評価されている。中でも温熱療法は、血流改善や代謝促進、疼痛緩和を目

的として臨床現場で広く用いられている。温熱刺激は末梢血管の拡張を引き起こし、局所の微小循環を改善することで、神経周囲の環境を変化させると考えられている。また、温熱および冷却刺激を繰り返すサイクル型温熱療法は、血管の収縮と拡張を誘導し、血流の再分配および浮腫の軽減を通じて症状改善に寄与することが報告されている⁷⁾。さらに、温熱刺激は TRP チャネルの活性化を介して感覚神経の興奮性を調節し、疼痛伝達の修飾に関与する可能性がある⁸⁾。

薬物療法の観点では、漢方薬は多成分による多標的作用を有し、慢性症状に対する補完的治療として注目されている。芍薬甘草湯は、筋緊張の緩和や疼痛軽減に用いられる代表的な処方であり、神経由来の症状に対する臨床応用も報告されている。しかしながら、その作用は主として筋・血流調節に基づくものと考えられており、神経障害そのものへの直接的な影響については未だ十分に解明されていない。

このように、温熱療法は血流動態および神経機能の両面に作用し得る一方で、芍薬甘草湯は筋・循環系を介して間接的に神経症状に影響を与える可能性がある。すなわち、両者は異なる作用経路を有するため、併用することで相補的あるいは相乗的な効果が得られる可能性が考えられる。しかしながら、化学物質曝露による神経障害モデルにおいて、これらの併用効果を体系的に検討した研究はこれまでにほとんど報告されていない。

そこで本研究では、ベンゾピレン曝露により誘導される神経障害モデルを対象として、温熱療法の単独および芍薬甘草湯併用効果を検討することを目的とする。特に、感覚異常の改善および神経機能の変化に着目し、行動学的評価と分子生物学的解析を組み合わせることで、その作用機序を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

5週齢のWistar系雄ラット(SLC株、静岡)を用いた。1週間の予備飼育後、以下の4群に無作為に割り付けた。コーンオイル 2週間連続投与後蒸留水投与群(Corn-DW)、ベンゾピレン 2週間連続投与後に蒸留水投与群(Ben-DW)、ベンゾピレン 2週間連続投与後に温熱療法群(Ben-He)、ベンゾピレン 2週間連続投与後に芍薬甘草湯+温熱療法群(Ben-ShHe)に分けた。

ベンゾピレンは 30 mg/kg とし、対照群には同容量のコーンオイルを、経口ゾンデを用いて 1 日 1 回 500 μ L、2 週間連続で強制経口投与した。薬物吸収および全身作用の発現時間を考慮し、投与は温熱負荷開始の 30 分前に実施した。その後、4 週間にわたり、Ben-ShHe 群には芍薬甘草湯(100 mg/kg)を、その他の群には同容量の蒸留水を同様に経口投与した。

温熱負荷は環境温度制御チャンバーを用いて実施した⁹⁾。ラットはケージに収容し、まず環境温度 39°C にて 15 分間曝露した後、35°C に設定した条件下で 20 分間維持した。これにより、深部体温を基準値から約 +1.0°C 上昇させた。

電気刺激に対する逃避反応閾値を指標として、時間的経過に伴う感覚変化を評価した。測定には小動物用電気刺激装置(STG2000、バイオリサーチセンター)を用い、ラットを拘束装置内での環境順化させた後に開始した。刺激は、異なる神経線維を標的とする 3 種類の周波数(5 Hz、250 Hz、2000 Hz)の正弦波を用い、覚醒下のラット右後肢足底部に提示した。刺激開始から逃避反応が観察されるまでの時間を計測し、p-CLAMP ソフトウェア(Axon Instruments)を用いて刺激強度(μ A)に換算した。測定は、薬物投与開始前および実験最終日の計 2 回実施した。

最終日の行動実験後、イソフルランを用いて深麻酔を施した。心臓採血後、放血に

より安楽死を誘導した。直ちに坐骨神経を採取し、解析まで-80℃で凍結保存した。解凍した組織から T-PER Tissue Protein Extraction Reagent (Thermo Fisher Scientific)を用いてタンパク質を抽出した。タンパク質解析は、自動ウェスタンブロット解析システム WES (ProteinSimple)を用い、一次抗体として cytochrome P450 1A1 (CYP1A1)、 myelin-associated glycoprotein (MAG)、および内部標準として β -Actin を用いて、各標的タンパク質の発現量を定量した。

(倫理面への配慮)

本実験は、熊本保健科学大学動物実験倫理委員会の承認 (登録番号：動 18-10) を得て、動物愛護および管理に関するガイドラインに準拠して施行した。組織採取に際しては、イソフルランの全身麻酔下での採血および過量吸入による安楽死処置を行い、動物に与える苦痛および苦悶を最小限に抑えるよう努めた。

C. 研究結果

ベンゾピレンおよび芍薬甘草湯の投与、ならびに温熱療法が感覚機能に及ぼす影響を評価するため、3 種の周波数 (5 Hz、250 Hz、2000 Hz) を用いて逃避反応閾値を測定した。その結果、C 線維および A δ 線維の機能を反映する 5 Hz および 250 Hz の刺激においては、群間で若干の変化は見られたものの、有意な閾値の変化は認められなかった (図 1A、B)。一方、大型の有髄線維 (A β 線維) の機能を反映する 2000 Hz の刺激においては、Corn-DW 群と比較して、Ben-DW 群で有意な感覚閾値の上昇 (感覚鈍麻) が認められた (図 1C)。このベンゾピレン誘発性の閾値上昇に対し、温熱療法を施行した Ben-He 群、および芍薬甘草湯と温熱療法を併用した Ben-ShHe 群では、閾値上昇の抑制が確認された (図 1C)。

ベンゾピレンによる神経毒性および各

治療介入のメカニズムを検討するため、坐骨神経におけるアリル炭化水素受容体 (AhR) の活性化指標である CYP1A1、および髄鞘の構造維持に関与する MAG の発現量を解析した。AhR の標的遺伝子産物である CYP1A1 の発現量は、Corn-DW 群と比較して Ben-DW 群で有意に増加しており、ベンゾピレンによる AhR 経路の活性化が示された (図 2A)。この増加は、Ben-He 群および Ben-ShHe 群において抑制され、温熱療法や芍薬甘草湯がベンゾピレンによる代謝ストレスを修飾している可能性が示唆された。髄鞘タンパク質である MAG の発現量は、Corn-DW 群に対し Ben-DW 群で顕著に減少しており、ベンゾピレンによる末梢神経の髄鞘損傷 (脱髄様変化) が示唆された (図 2B)。これに対し、Ben-He 群および Ben-ShHe 群では MAG の発現減少が抑制傾向であり、温熱療法および芍薬甘草湯が髄鞘の構造維持に対して保護的に作用したことが示された。

ラットの行動変化と酸化ストレスの相関を評価するため、血清中の酸化ストレス度 (d-ROMs) および抗酸化力 (BAP) への影響を検討した。まず酸化ストレス度については、Corn-DW 群と比較して Ben-DW 群で明らかな上昇が認められ、Ben-He 群および Ben-ShHe 群においても同様の上昇傾向が示された (図 3A)。一方、抗酸化力に関しては、Ben-DW 群で低下が認められたが、Ben-He 群および Ben-ShHe 群では Ben-DW 群に対する低下抑制傾向が確認された (図 3B)。これらの指標を用い、個体ごとの酸化バランスを反映する潜在的抗酸化能指数 (BAP/d-ROMs) を算出した (図 3C)。本研究では、同指数が 12.5 以下の状態を「酸化ストレス状態」と定義した。解析の結果、Ben-DW 群は Corn-DW 群に対して有意な酸化ストレス状態を呈していたが、Ben-He 群および Ben-ShHe 群においては Ben-DW 群と比較して指数の回復が認められ、酸化ストレス状態が改善されること

が示唆された。

D. 考察

本研究では、ダイオキシン様作用を有する多環芳香族炭化水素であるベンゾピレンによって誘導される末梢神経障害に対し、芍薬甘草湯および温熱療法の併用が及ぼす影響について検討した。ダイオキシン関連疾患では、発症後長期間にわたり感覚異常が持続することが報告されており、末梢神経障害は依然として臨床的課題の一つである¹⁻⁴⁾。

1. A β 線維に関連した感覚異常と脱髄との関連

行動学的評価において、ベンゾピレン投与は2000 Hz 刺激に対する逃避反応閾値を上昇させた。この周波数は大型有髄線維である A β 線維機能を主に反映する指標とされている¹⁰⁾。一方で、C 線維および A δ 線維に対応する低周波刺激では明確な変化は認められなかった。これらの結果から、ベンゾピレンは比較的大径の有髄線維機能に影響を及ぼす可能性が示唆される¹¹⁾。

分子生物学的解析では、髄鞘維持に関与する Myelin-associated glycoprotein (MAG) の発現低下が認められた。MAG は軸索- シュワン細胞間の相互作用に関与し、その低下は髄鞘構造の不安定化を反映する指標とされている¹²⁾。このことから、本研究で認められた感覚機能の変化には、脱髄様変化が関与している可能性が考えられる。特に A β 線維は髄鞘依存的な伝導特性を有するため、髄鞘構造の変化が伝導効率に影響し、結果として感覚閾値の変動として観察された可能性がある。

2. 温熱療法と AhR 関連経路の関与

本研究において、温熱療法施行群ではベンゾピレン投与により誘導された CYP1A1 発現の上昇が抑制される傾向が認められた。ベンゾピレンはアリール炭

化水素受容体 (AhR) を介して CYP1A1 発現を誘導することが知られており、この過程は活性酸素種 (ROS) の産生と関連している¹³⁾。

温熱刺激による CYP1A1 発現変化の機序については、ヒートショック応答との関連が考えられる。AhR は HSP90 を含む分子シャペロン複合体として細胞質に存在し、その活性は細胞内環境に依存することが報告されている¹⁴⁻¹⁶⁾。したがって、温熱刺激に伴う細胞内ストレス応答の変化が AhR シグナルの調節に影響を及ぼした可能性がある。ただし、温熱刺激が AhR 活性やその下流遺伝子発現を直接的に抑制する機序については十分な証拠がなく、今後の検討が必要である。

3. 酸化ストレスバランスと神経機能との関連

ベンゾピレン投与により酸化ストレス指標 (d-ROMs) の上昇および抗酸化能 (BAP) の低下が認められたことから、酸化還元バランスの破綻が生じていることが示唆された。酸化ストレスは末梢神経障害の進展に関与する重要な要因とされている。

一方、温熱療法施行群では抗酸化能の低下が抑制される傾向が認められた。温熱刺激は循環動態に影響を与えるとともに、ヒートショック応答を介して内因性抗酸化酵素の発現を調節することが報告されている^{17, 18)}。これらの作用により酸化還元環境が維持され、結果として髄鞘構造の安定化や MAG 発現の維持に寄与した可能性が考えられる。

4. 芍薬甘草湯と温熱療法の相乗効果

芍薬甘草湯と温熱療法を併用した群では、各指標において比較的安定した改善傾向が認められた。芍薬甘草湯に含まれるペオニフロリンおよびグリチルリチンは、抗炎症作用および抗酸化作用を有することが報告されている¹⁹⁻²⁰⁾。さらに、ペオニフロリンは神経系において抗

炎症・抗酸化作用を介した神経保護作用を示すことが知られている²¹⁾。また、芍薬甘草湯は抗がん剤誘発性末梢神経障害に対して、疼痛やアロディニアの軽減に寄与する可能性が報告されており²¹⁾、本研究の結果と整合的である。特に、動物モデルおよび臨床観察において、化学療法に伴う神経障害の症状改善が示唆されている²²⁾。

温熱療法による循環動態の変化は、組織血流に影響を及ぼし、結果として薬理成分の分布に関与する可能性がある。このような作用により、芍薬甘草湯の有効成分が末梢神経組織に作用しやすい環境が形成された可能性が考えられる。

以上より、温熱療法による生体環境の変化と、芍薬甘草湯に含まれる成分の抗炎症・抗酸化作用が相補的に働いた結果として、神経障害の改善に寄与した可能性が示唆される。ただし、温熱刺激がAhR経路を直接抑制することを示す明確な証拠は現時点では乏しく、その詳細な分子機構については今後の検討が必要である。

結語

本研究の結果から、ベンゾピレンによって誘導される末梢神経障害には、大径有髄線維の機能変化および酸化ストレスの関与が示唆された。また、温熱療法は酸化ストレスの軽減および細胞内応答の調節を介して神経機能に影響を及ぼす可能性が示された。さらに、芍薬甘草湯との併用は、これらの作用を補完する可能性が考えられる。本知見は、化学的因子による神経障害に対する多角的介入の有用性を示唆するものであるが、その分子機序の詳細については今後の検討が必要である。

引用文献

- 1) Aoki Y: Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxin, and polychlorinated dibenzofuran as endocrine disruptors what we have learned from Yusho disease. *Environ Res*, 86(1):2-11, 2001.
- 2) 黒岩義五郎, 村井由之, 三田哲司: 油症患者における神経学的所見. *福岡医誌*, 60: 462-463, 1969.
- 3) 岩下宏, 志田堅四郎, 増田義人: 慢性油症患者における頭痛, 四肢異常感と血中 PCB. *福岡医誌*, 68: 139-144, 1977.
- 4) 古谷博和, 大八木保政, 山田猛, 他: 36 年以上経過した油症患者における神経症候. *福岡医誌*, 96: 152-156, 2005.
- 5) Wang G, Wang X, Gao Q, et al., Effects Of Heat-Conduction Dry Needling Therapy On TRPV1 Channel In Rats. *J Pain Res*. 15;12:2865-2874, 2019.
- 6) Kambiz S, Duraku LS, Holstege JC, et al., Thermo-sensitive TRP channels in peripheral nerve injury: a review of their role in cold intolerance. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 67(5):591-9, 2014.
- 7) Kim M, Kim EM, Oh PS, et al., Usefulness of cyclic thermal therapy and red blood cell scintigraphy in patients with chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Korean J Pain*. 1;34(4):427-436, 2021.
- 8) González-Ramírez R, Chen Y, Liedtke WB, et al. TRP Channels and Pain. In: Emir TLR, editor. *Neurobiology of TRP Channels*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2017. Chapter 8.
- 9) Iwashita Y, Yoza Y, Kameyama H, et al., A Possible Reno-protective

- Effect of Systemic Thermal Stimulation in a Mouse Remnant Kidney Model. *J Balneol Climato Physic Med.* 78(2):118-129, 2015.
- 10) Bleecker ML, Ford DP, Vaughan CG, Lindgren KN, Tiburzi MJ, Walsh KS. Effect of lead exposure and ergonomic stressors on peripheral nerve function. *Environ Health Perspect.* 113(12):1730-1734. 2005.
 - 11) Nave KA, Werner HB. Myelination of the nervous system: mechanisms and functions. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 30:503-33, 2014.
 - 12) Quarles RH. Myelin-associated glycoprotein (MAG): past, present and beyond. *J Neurochem.* 100(6):1431-1448, 2007.
 - 13) 吉岡 亘, 遠山 千春. AhR の細胞質における作用とダイオキシン毒性の関係. 第 49 回日本毒性学会学術年会. 49.1 巻, S24-3, 2022.
 - 14) Hughes D, Guttenplan JB, Marcus CB, et al., Heat shock protein 90 inhibitors suppress aryl hydrocarbon receptor-mediated activation of CYP1A1 and CYP1B1 transcription and DNA adduct formation. *Cancer Prev Res (Phila).* 1(6):485-93, 2008.
 - 15) Tsuji N, Fukuda K, Nagata Y, et al., The activation mechanism of the aryl hydrocarbon receptor (AhR) by molecular chaperone HSP90. *FEBS Open Bio.* 4:796-803, 2014.
 - 16) Cox MB, Miller CA 3rd. Cooperation of heat shock protein 90 and p23 in aryl hydrocarbon receptor signaling. *Cell Stress Chaperones.* 9(1):4-20, 2004.
 - 17) Jin H, Li Z, Guo X, et al., Microcirculatory Disorders and Protective Role of Antioxidant in Severe Heat Stroke: A Rat Study. *Shock.* 46(6):688-695, 2016.
 - 18) Banerjee Mustafi S, Chakraborty PK, Dey RS, et al., Heat stress upregulates chaperone heat shock protein 70 and antioxidant manganese superoxide dismutase through reactive oxygen species (ROS), p38MAPK, and Akt. *Cell Stress Chaperones.* 14(6):579-89, 2009.
 - 19) Xin Q, Yuan R, Shi W, et al., A review for the anti-inflammatory effects of paeoniflorin in inflammatory disorders. *Life Sci.* 237:116925, 2019.
 - 20) Lu Y, Yin L, Yang W, et al., Antioxidant effects of Paeoniflorin and relevant molecular mechanisms as related to a variety of diseases: A review. *Biomed Pharmacother.* 176:116772, 2024.
 - 21) Hong H, Lu X, Wu C, et al., A review for the pharmacological effects of paeoniflorin in the nervous system. *Front Pharmacol.* 13:898955, 2022.
 - 22) Lee G, Kim SK. Therapeutic Effects of Phytochemicals and Medicinal Herbs on Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Molecules.* 21(9):1252, 2016.

F. 研究発表

1. 論文発表

- ① 福永貴之, 柳原理久, 房野良樹, 申敏哲. 行動量計と分子生物学的手法を用いたベンゾピレン中毒ラットに対する a 5-deazaflavin derivative の効果検討. 熊本保健科学大学研究誌. 23:21-29. 2026. 「査読あり」
- ② 小牧龍二, 竹本華愛, 赤木野乃佳, 福永貴之, 柳原理久, 房野良樹, 鄭 英

美, 申 敏哲. 舌への体性感覚刺激が ADHD モデルラットに及ぼす影響. 熊本保健科学大学研究誌. 23 : 11–20. 2026. 「査読あり」

2. 学会発表

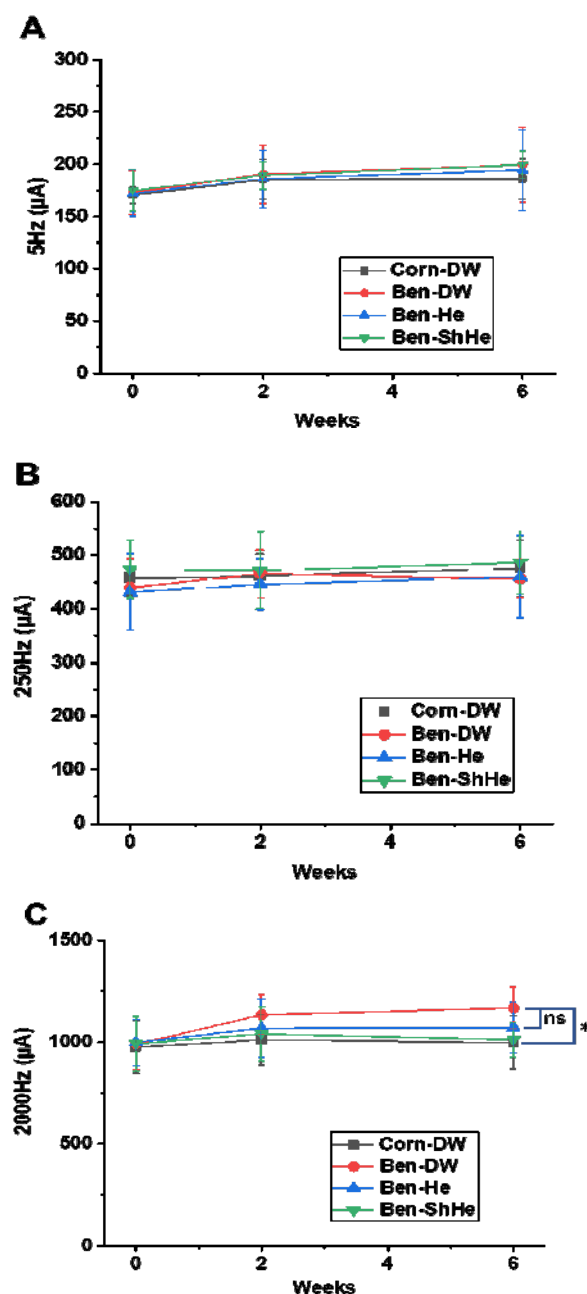
- ① 申 敏哲, 福永貴之, 小牧龍二. 行動量計と分子生物学的手法を用いたベンゾピレン中毒ラットに対する5-デアザフラビン誘導体の効果検討. 第76回西日本生理学会. J:COM ホルトホール大分. 2025年10月31日-11月1日.
- ② 小牧龍二, 福永貴之, 申 敏哲. 舌への体性感覚刺激が ADHD モデルラットに及ぼす影響. 第76回西日本生理学会. J:COM ホルトホール大分. 2025年10月31日-11月1日.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

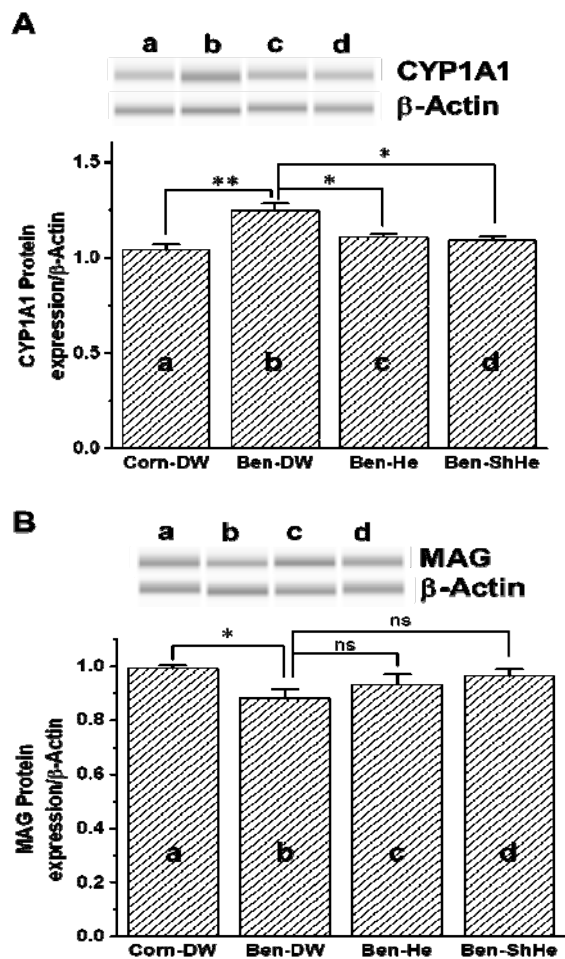
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Fig 1. ベンゾピレンおよび芍薬甘草湯の投与、ならびに温熱療法がラットの感覚閾値の変化に及ぼす影響。



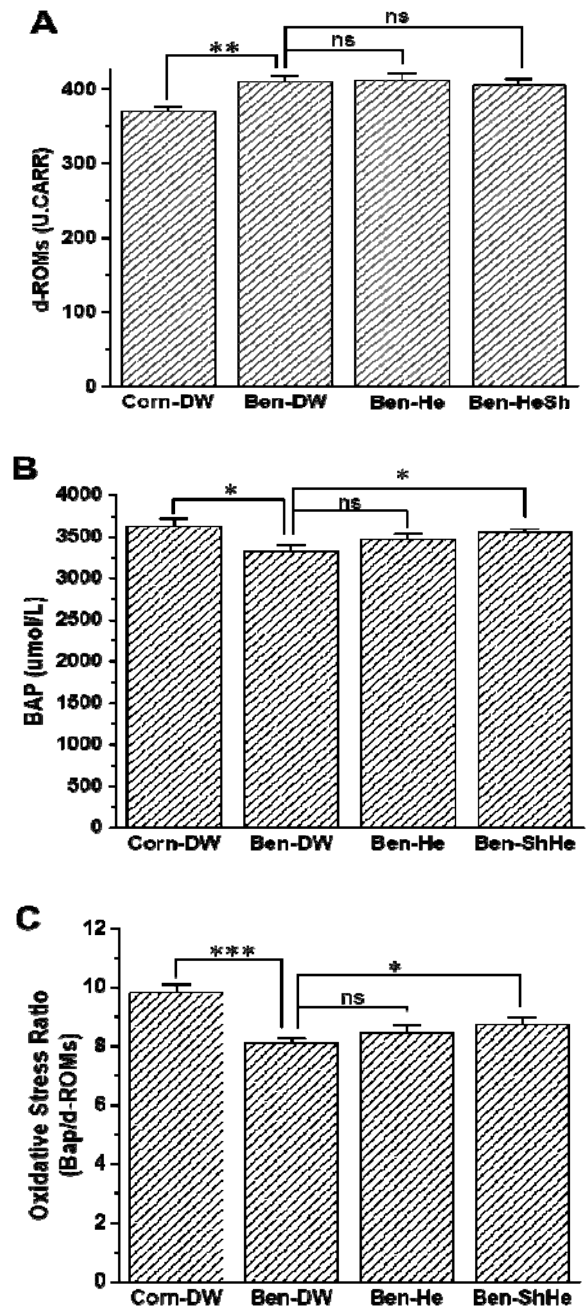
Corn, Corn-oil; DW, 蒸留水; Ben, 30mg/kg ベンゾピレン; He, 温熱療法; Sh, 芍薬甘草湯。*, $P < 0.05$; ns, not significant; Mean $\pm$ S. D.

Fig 2. ベンゾピレンおよび芍薬甘草湯の投与、ならびに温熱療法がラットの CYP1A1、MAG タンパク質の発現に及ぼす影響。



A、CYP1A1 タンパク質の変化;B、MAG タンパク質の変化; Corn、Corn-oil; DW、蒸留水; Ben、30mg/kg ベンゾピレン; He、温熱療法; Sh、芍薬甘草湯;CYP1A1、cytochrome P450 (P450) 1A1;MAG、myelin-associated glycoprotein。*, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ns、not significant; Mean $\pm$ S. E.

Fig 3. ベンゾピレンおよび芍薬甘草湯の投与、ならびに温熱療法がラットの 酸化ストレス度に及ぼす影響。



A、酸化ストレス. B、抗酸化力. C、酸化ストレス度; Corn、Corn-oil; DW、蒸留水; Ben、30mg/kg ベンゾピレン; He、温熱療法; Sh、芍薬甘草湯; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$; ns、not significant; Mean $\pm$ S. E.

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による出生児の性未成熟の機構解析：脳の性分化と生殖腺の発達に対する芳香族炭化水素受容体の寄与

研究分担者 石井 祐次 九州大学大学院薬学研究院細胞生物薬学分野 教授

研究要旨

令和6年度において、妊娠母体への TCDD 低用量曝露モデルおよび AHR 欠損ラットを用い、胎児精巣における精巣成長関連因子の発現が AHR 欠損により変動することを明らかにした。精巣成長関連因子である FGF 類およびその受容体は精巣の発生および分化過程に重要な役割を果たすことが知られており、胎児期におけるこれら因子の発現変動は将来的な精巣機能に影響を及ぼす可能性がある。本年度はこれらの知見を基盤とし、胎児期における分子制御機構をさらに明らかにすることを目的として、胎児精巣におけるエピジェネティック制御因子ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の発現解析を行った。さらに、胎児期における AHR 依存的影響が精巣以外の臓器にも及ぶ可能性を検討するため、胎児肝臓における CYP3A 発現変動と発育障害との関連解析を行うとともに、主要薬物代謝酵素群の網羅的解析を実施した。その結果、胎児精巣では AHR 欠損により HDAC2 および HDAC5 の発現上昇が認められた。HDAC はヒストンの脱アセチル化を介してクロマチン構造を変化させ、遺伝子発現を調節するエピジェネティック因子であることから、胎児期精巣における遺伝子発現調節機構の一部に AHR が関与している可能性が示された。一方、胎児肝臓では CYP3A 分子種が TCDD 曝露により誘導され、その変動は AHR 欠損下では認められなかったことから、この CYP3A 発現変動が AHR 依存的であることが明らかになった。CYP3A はグルココルチコイド代謝に関与することが知られており、胎児期におけるその発現変動はホルモン代謝環境を変化させ、発育障害と関連する可能性がある。さらに、その他の薬物代謝酵素について解析を行った結果、一部の CYP および UGT 分子種に AHR 依存的発現変動が認められた。一方、SULT 分子種には明らかな変動は認められなかった。以上より、胎児期における AHR は精巣においては遺伝子発現調節機構に関与し、肝臓においては代謝酵素発現制御を介して発達環境に影響を及ぼす可能性が示された。

A. 研究目的

妊娠期のダイオキシン曝露による出生児の発育障害および性成熟異常は、比較的低用量で発現し、その影響が長期間持続することから重要な課題である。実験動物において、妊娠母体へのダイオキシン曝露により出生児に低体重や発達異常が生じることが報告されている [1]。また、ヒトにおいても周産期のダイオキシン曝露と出生

体重や発達指標との関連が報告されている [2]。ダイオキシン類の毒性発現の多くは芳香族炭化水素受容体 (aryl hydrocarbon receptor; AHR) を介して生じることが知られており [3]、AHR はリガンド結合後に核内へ移行し、AHR nuclear translocator (ARNT) とヘテロダイマーを形成して xenobiotic responsive element (XRE) に結合し標的遺伝子の転写を制御

する転写因子である [4]。一方で、AHR 欠損動物では生殖機能異常や肝機能異常などが報告されており [5,6]、AHR は外因性リガンド応答因子としてのみならず、生理的発達過程にも関与する可能性が示唆されている。当研究室ではこれまでに、AHR 欠損ラットを用いて発達期における内分泌制御機構の解析を行ってきた。令和 6 年度の検討では、胎児精巣において線維芽細胞成長因子 (fibroblast growth factor: FGF) およびその受容体 (FGFR) の発現が AHR 欠損により変動することを明らかにした。FGF ファミリーは精巣発生および精子形成過程において重要な役割を担う成長因子群であり、Sertoli 細胞および Leydig 細胞の分化や精巣組織形成に関与することが報告されている [7,8]。したがって、胎児期における FGF シグナルの変動は、その後の精巣発生および生殖機能に影響を及ぼす可能性がある。しかしながら、AHR 欠損により生じる FGF 類の発現変動がどのような転写制御機構を介して成立しているのかについては未解明であった。一般に、FGF シグナルはクロマチン構造や転写因子活性などの転写制御環境により精緻に調節されることが知られている。ヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase; HDAC) はヒストンの脱アセチル化を介してクロマチン構造を凝縮させ、遺伝子発現を抑制的に制御するエピジェネティック因子であり、発生過程における遺伝子発現プログラムの確立に重要な役割を果たすことが報告されている [9]。そこで本研究では、令和 6 年度に明らかとなった胎児精巣における FGF 類発現変動の上流制御機構として HDAC 発現の変動に着目し、AHR 欠損あるいは TCDD 曝露が胎児精巣における HDAC 発現に及ぼす影響を解析することを第一の目的とした。さらに、胎児期における AHR 依存的転写制御が精巣に限定されるのか否かを検討するため、胎児肝臓における主要薬物代謝

酵素群の発現解析を行った。胎児肝臓は薬物代謝酵素発現が確立される重要な発達段階であり、cytochrome P450 (CYP) 分子種は外因性化学物質のみならず内因性ホルモンの代謝にも関与することが知られている。とくに CYP3A はグルココルチコイドなどの内因性ホルモンの代謝に関与する主要酵素である [10]。グルココルチコイドは発達期の成長調節にも関与することから、胎児期における CYP3A 発現変動は発育障害と関連する可能性が考えられる。そこで、CYP3A の発現変動およびその AHR 依存性を検討することを第二の目的とした。

加えて、胎児期における AHR 依存的代謝制御が特定の酵素に限られるのか、あるいは代謝ネットワーク全体に及ぶのかを明らかにするため、UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT)、硫酸転移酵素 (SULT)、グルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) などの第 II 相代謝酵素群についても解析を行った。胎児肝臓におけるこれら代謝酵素群の発現変動を解析し、胎児期における代謝ネットワーク再編成の有無を明らかにすることを第三の目的とした。

以上の検討により、胎児期における AHR 依存的分子制御機構を精巣分化および肝代謝酵素発現の両面から解析し、ダイオキシン曝露による発達期影響の分子基盤を明らかにすることを本研究の目的とした。

B. 研究方法

1. 動物実験

AHR-KO ラットは、XTNTM TAL nuclease ベクターを用いて作出した (14)。遺伝子型の判別は、出生児の尾あるいは耳小片よりゲノム DNA を抽出し、AhR 遺伝子をコードするプライマーを用いた PCR によって行った。

1-1. 児の AHR 遺伝子型間での比較

雌雄の AHR-Het ラットを一晩交配し、翌朝膈内に精子が確認された場合、その日を妊娠 0 日目とした。出生後の成熟に対する影響を調べるため、母ラットを自然に出産させたのち、生後 21 目において離乳させた。遺伝子型を判別したのち、継続飼育を行い、AHR-Het ラットを交配して、系統維持を行った。

1.2 ダイオキシン次世代影響

雌雄の AHR-Het ラットを一晩交配し、翌朝膈内に精子が確認された場合、その日を妊娠 0 日目とした。妊娠 15 日目に 1 µg/kg の TCDD を経口投与し、GD20 でサンプリングを行った。遺伝子型の判別は胎児の尾よりゲノム DNA を採取し、AHR 遺伝子をコードするプライマーを用いた PCR によって行った。これらにより、野生型と AHR 欠損型の比較を行うだけでなく、ダイオキシンによる次世代毒性についても検討を行った。胎児より肝臓、視床下部、下垂体、精巣および血液を採取した。

2. リアルタイム RT-PCR 法

組織より total RNA を抽出したのち、PrimeScript RT reagent kit with gDNA Eraser (タカラバイオ社) を用いて cDNA を合成した (18)。これを鋳型とし、Fast SYBR Green Master Mix (Life Technologies 社) を用いて目的タンパク質の mRNA 発現変動を解析した。解析は、ターゲット mRNA の threshold cycle (Ct) 値を β -actin mRNA の Ct 値で補正した。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験は、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認のもとに、動物の苦痛を可能な限り軽減して実施した。動物実験承認番号：A22-068 及び A24-137-0。遺伝子組換え実験は、「九州

大学遺伝子組換え実験安全管理規則」第 10 条第 2 項の規定に基づき、委員会の承認を得て行った (承認番号: 1-9 及び 6-7)。

C. 研究結果

1. 胎児精巣における HDAC 発現変動

令和 6 年度の検討において、胎児精巣では AHR 欠損により FGF1、FGF2、FGFR1、FGFR3 の発現低下および FGF9 の発現上昇が認められ、発達段階依存的な FGF シグナル攪乱が示唆された (令和 6 年度報告書)。これらの発現変動の上流制御機構を明らかにするため、本年度は胎児精巣におけるヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の発現を解析した。その結果、AHR 欠損胎児精巣において HDAC2 および HDAC5 の mRNA 発現が有意に上昇した。一方、TCDD 曝露による HDAC 発現変動は明確ではなかった (Fig. 1)。

2. 胎児肝臓における CYP3A 発現変動

CYP1A1 及び CYP1A2 は AHR を介した一般的発現マーカーと考えられており、TCDD 妊娠期曝露した胎児の肝臓においても mRNA 発現の誘導が確認され、これは AHR 依存的であった (Fig. 2)。次に、胎児肝臓における CYP3A 分子種の発現を解析したところ、TCDD 曝露により CYP3A の mRNA 発現が誘導された。この発現誘導は AHR 欠損個体では消失しており、CYP3A 発現変動が AHR 依存的であることが示された (Fig. 1)。CYP3A はグルココルチコイドを含む内因性ホルモンの代謝に関与する酵素である [10]。グルココルチコイドは成長ホルモン分泌および組織分化に関与することが知られており、胎児期における過剰代謝は発育制御に影響を及ぼす可能性がある。妊娠期ダイオキシン曝露による低体重や低身長が報告されていること [1] を踏まえると、胎児肝 CYP3A 誘導は発育障害に寄与する可能性が示唆された。

3. その他主要薬物代謝酵素群の解析

胎児肝臓において、その他主要な CYP 分子種及び CYP 以外の主要薬物代謝酵素群についても解析を行った。その結果、CYP2C11、2C13、7A1、4A においては有意な発現減少もしくは減少傾向が見られ (Fig. 3, Fig. 4)、CYP2E1 及び UGT1A7 においては有意な発現上昇が見られた (Fig. 3, Fig. 5)。一方で、SULT 分子種および GST 群では顕著な変動は観察されなかった (Fig. 6, Fig. 7)。

D. 考察

令和 6 年度の検討により、胎児精巣において AHR 欠損により FGF 類の発現変動が生じることを明らかにした。FGF ファミリーは発生過程における重要な増殖因子群であり、特に精巣発生および精巣組織形成において中心的な役割を担うことが知られている。Sertoli 細胞および Leydig 細胞の分化、精巣索形成、さらには精子形成の基盤となる細胞間相互作用の制御に関与することが報告されている [7,8]。

本年度の解析により、AHR 欠損胎児精巣において HDAC2 および HDAC5 の発現上昇が認められた。HDAC はヒストンの脱アセチル化を介してクロマチン構造を変化させ、遺伝子発現を抑制的に制御するエピジェネティック制御因子であることが知られている [9]。したがって、HDAC 発現の増加によりクロマチン構造が変化することで、FGF 関連遺伝子を含む分化関連遺伝子群の転写調節環境が変化した可能性が考えられる。これらの結果は、胎児精巣における FGF 発現変動の一因として、エピジェネティック制御環境の変化が関与している可能性を示唆するものである。

一方、胎児肝臓においては TCDD 曝露により CYP3A 分子種の発現誘導が認められ、その変動は AHR 欠損個体では消

失したことから、CYP3A 制御が AHR 依存的事であることが明らかとなった。CYP3A は肝臓において主要な薬物代謝酵素群の一つであり、外因性化学物質のみならずステロイドホルモンやグルココルチコイドなどの内因性ホルモンの代謝にも関与することが知られている [10]。さらに、妊娠期ダイオキシン曝露により出生児の低体重や成長遅延が生じることが報告されていることから [1]、胎児肝臓における CYP3A の誘導はホルモン代謝環境を変化させることにより、発育障害に寄与する可能性が考えられる。さらに、CYP2E1 などの他の CYP 分子種においても AHR 依存的な発現変動が見られたことから、胎児期における AHR 活性化は第一相代謝経路の複数分子種に影響を及ぼす可能性が示された。これらの結果は、胎児期における AHR 活性化が肝臓の第一相代謝酵素ネットワーク全体に影響を及ぼす可能性を示唆するものである。一方で、UGT や SULT、GST などの第二相代謝酵素においては顕著な発現変動は認められなかったことから、胎児期における AHR 依存的代謝制御はすべての代謝経路に均一に作用するのではなく、特定の代謝酵素群に選択的に影響を及ぼす可能性が示唆された。

E. 結論

- 1) AHR 欠損により胎児精巣において HDAC2 および HDAC5 の mRNA 発現量が増加していることが明らかとなった。
- 2) 胎児精巣における HDAC 発現量に関しては、TCDD による明確な変動は認められなかった。
- 3) 胎児肝臓において CYP3A 分子種の mRNA 発現は TCDD 曝露により誘導され、その変動は AHR 欠損個体では認められなかったことから、CYP3A 発現は AHR 依存的に制御されていることが明らかとなった。

4) 胎児肝臓におけるその他の薬物代謝酵素について解析したところ、CYP2C11、CYP2C13、CYP7A1、CYP4A は発現低下あるいは低下傾向を示し、CYP2E1 および UGT1A7 は発現上昇を示した。一方、SULT 分子種および GST 群では顕著な発現変動は認められなかった。以上の結果から、AHR は発達期における複数の分子制御機構に関与している可能性が示された。

F. 研究発表

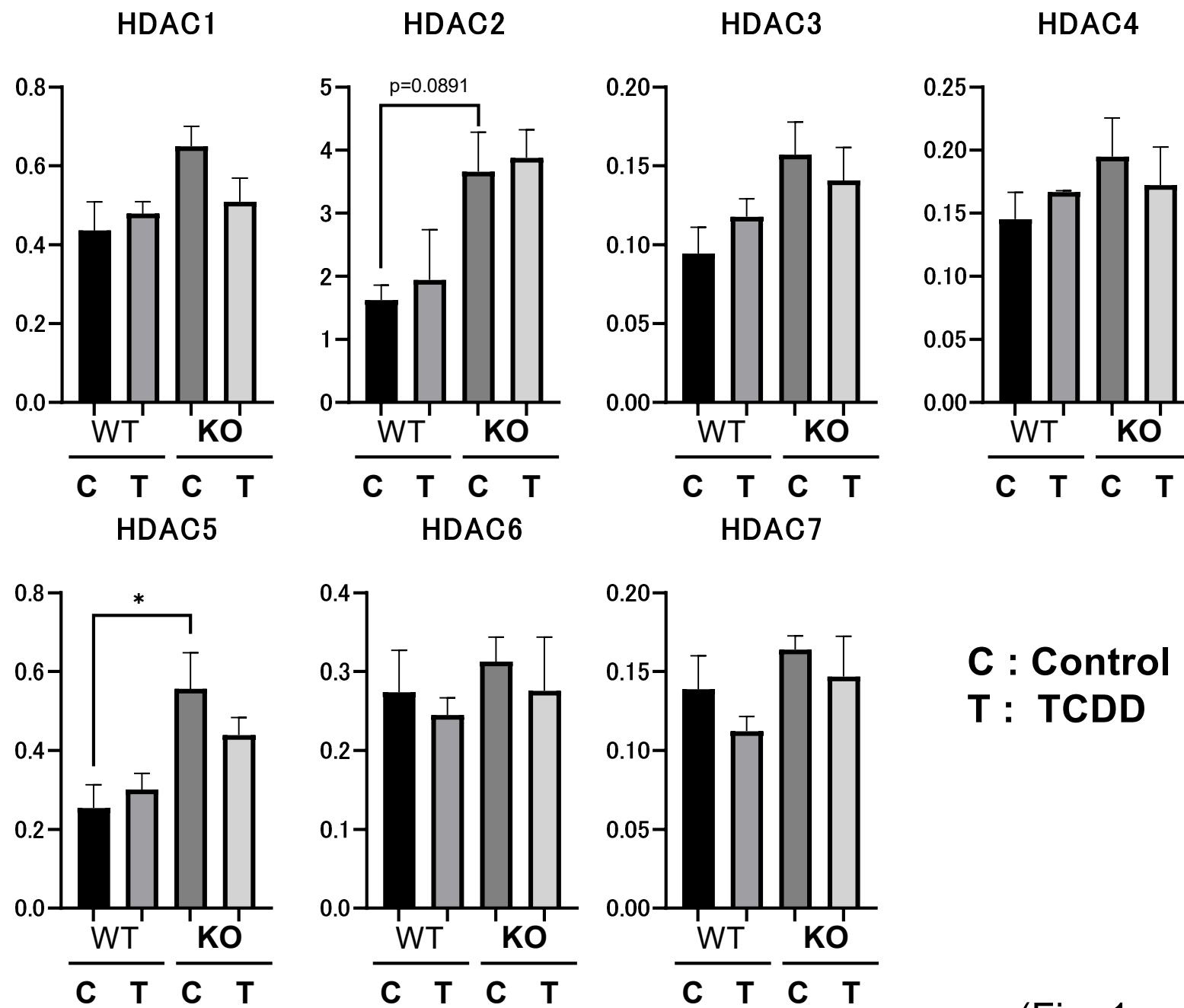
1. 第 42 回日本薬学会九州山口支部大会 (2025 年 11 月 15 日, 長崎).

G. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

H. 参考文献

- 1) Peterson RE, Theobald HM, Kimmel GL. *Crit Rev Toxicol*, **23**: 283-335 (1993).
- 2) Stølevik, S. B., Nygaard, U. C., Namork, E., Haugen, M., Meltzer, H. M., Alexander, J., Knutsen, H. K., Aaberge, I., Vainio, K., van Loveren, H., Løvik, M., & Granum, B. *Food Chem. Toxicol.*, **51**: 165–172 (2013).
- 3) Poland, A., Glover, E., & Kende, A. S. *J. Biol. Chem.*, **251**: 4936–4946 (1976)
- 4) Hankinson, O. *Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **35**: 307–340 (1995)
- 5) Baba T, Shima Y, Owaki A, Mimura J, Oshima M, Fujii-Kuriyama Y, Morohashi K. *Sex Dev*, **2**: 1-11 (2008).
- 6) Harrill JA, Hukkanen RR, Lawson M, Martin G, Gilger B, Soldatow V, Lecluyse EL, Budinsky RA, Rowlands JC, Thomas RS. *Toxicol Appl Pharmacol*, **272**: 503-518 (2013)
- 7) Beenken, A., & Mohammadi, M. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **8**: 235–253 (2009).
- 8) O'Shaughnessy, P. J., & Fowler, P. A. *Reproduction*, **141**: 37–46 (2011).
- 9) Zhu, X., Gleiberman, A. S., & Rosenfeld, M. G. *Physiol. Rev.*, **87**: 933–963 (2007).
- 10) Guengerich, F. P. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **39**: 1–17 (1999).

mRNA level (% of β -actin)



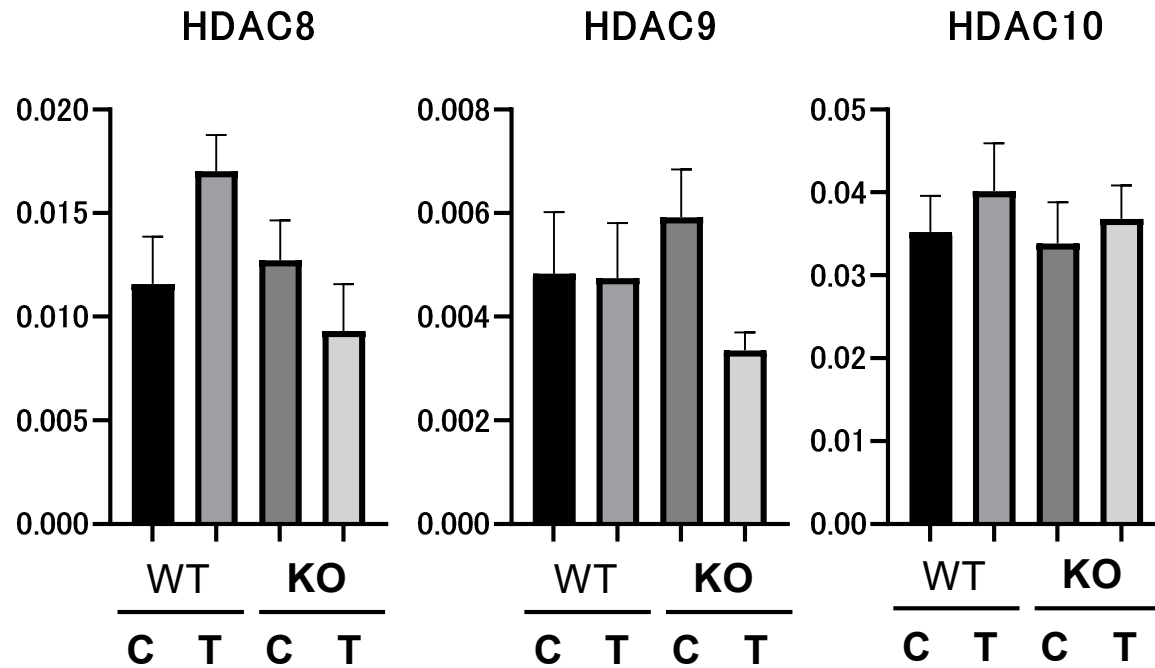


Fig. 1. The testicular expression of HDAC mRNA level in AHR deficient rat fetuses at GD20. Each bar represents the means $\pm$ S.E.M. of 5 fetuses (each number was shown in the parenthesis) which were removed from different dams. Significantly different between the pair indicated: * , $p < 0.05$. Abbreviation used: HDAC, histone deacetylase.

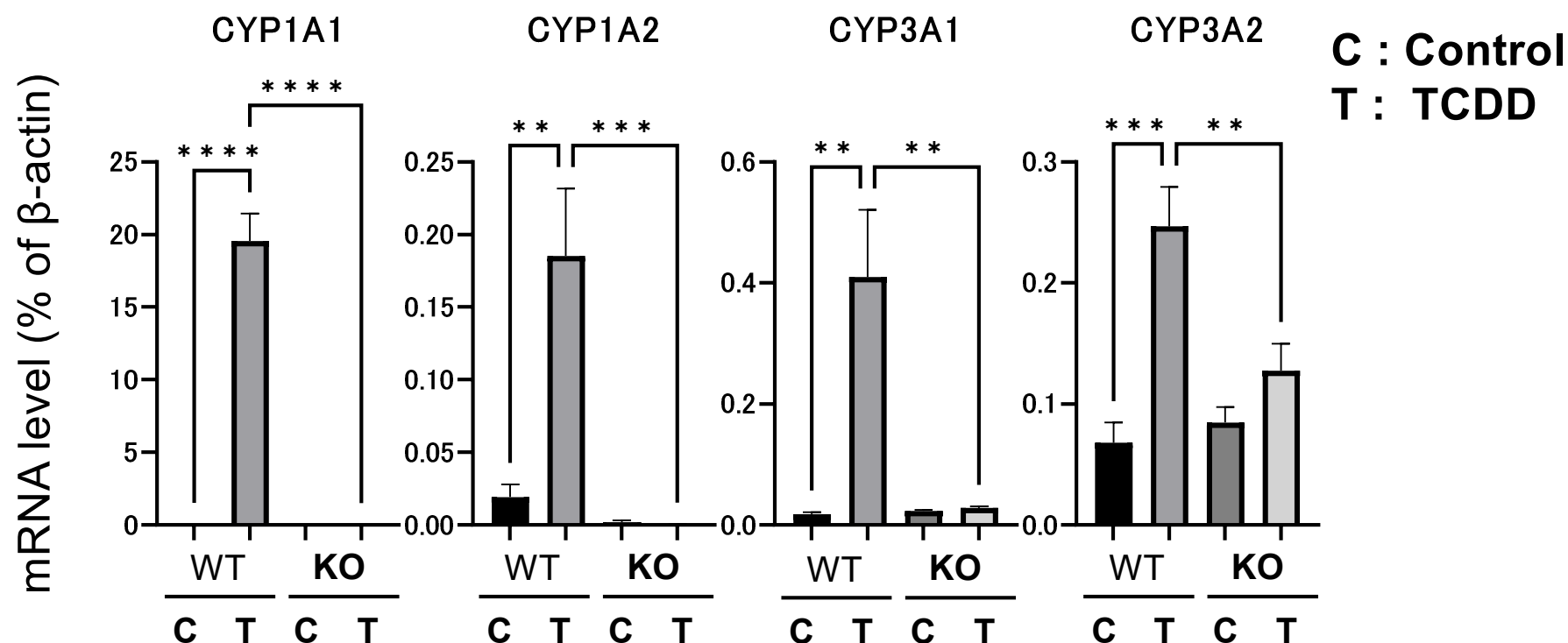


Fig. 2. The hepatic expression of CYP1A1, CYP1A2, CYP3A1 and CYP3A2 mRNA in AHR deficient rat fetuses at GD20. Each bar represents the means $\pm$ S.E.M. of 5 fetuses (each number was shown in the parenthesis) which were removed from different dams. Significantly different between the pair indicated: * , $p < 0.05$, ** , $p < 0.01$, *** , $p < 0.001$, **** , $p < 0.0001$. Abbreviation used: CYP, Cytochrome P450.

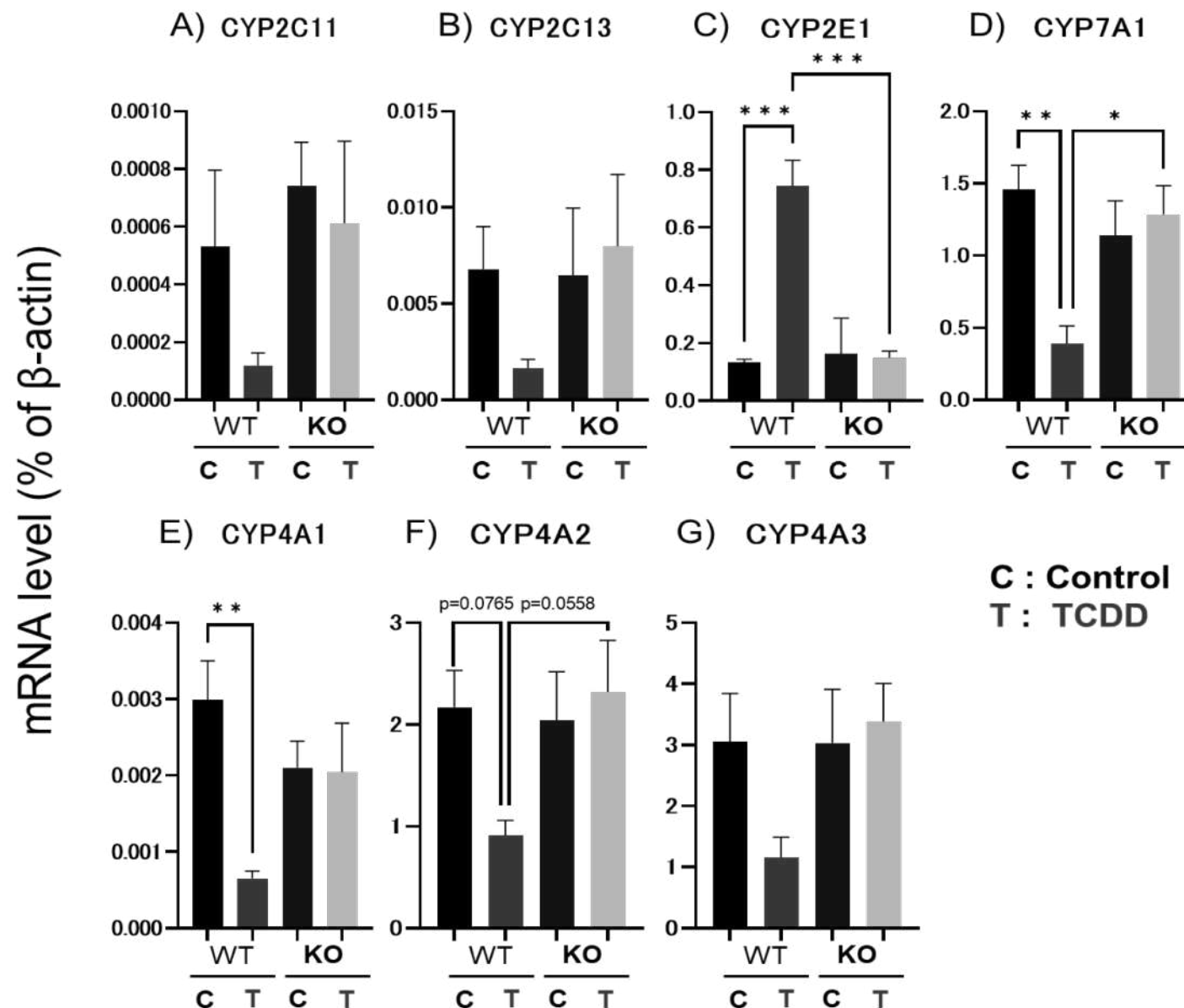


Fig. 3. Hepatic mRNA expression of CYP isoforms in AHR-deficient rat fetuses at GD20. Each bar represents the means $\pm$ S.E.M. of 5 fetuses which were removed from different dams. Significantly different between the pair indicated: *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$ and ***, $p < 0.001$.

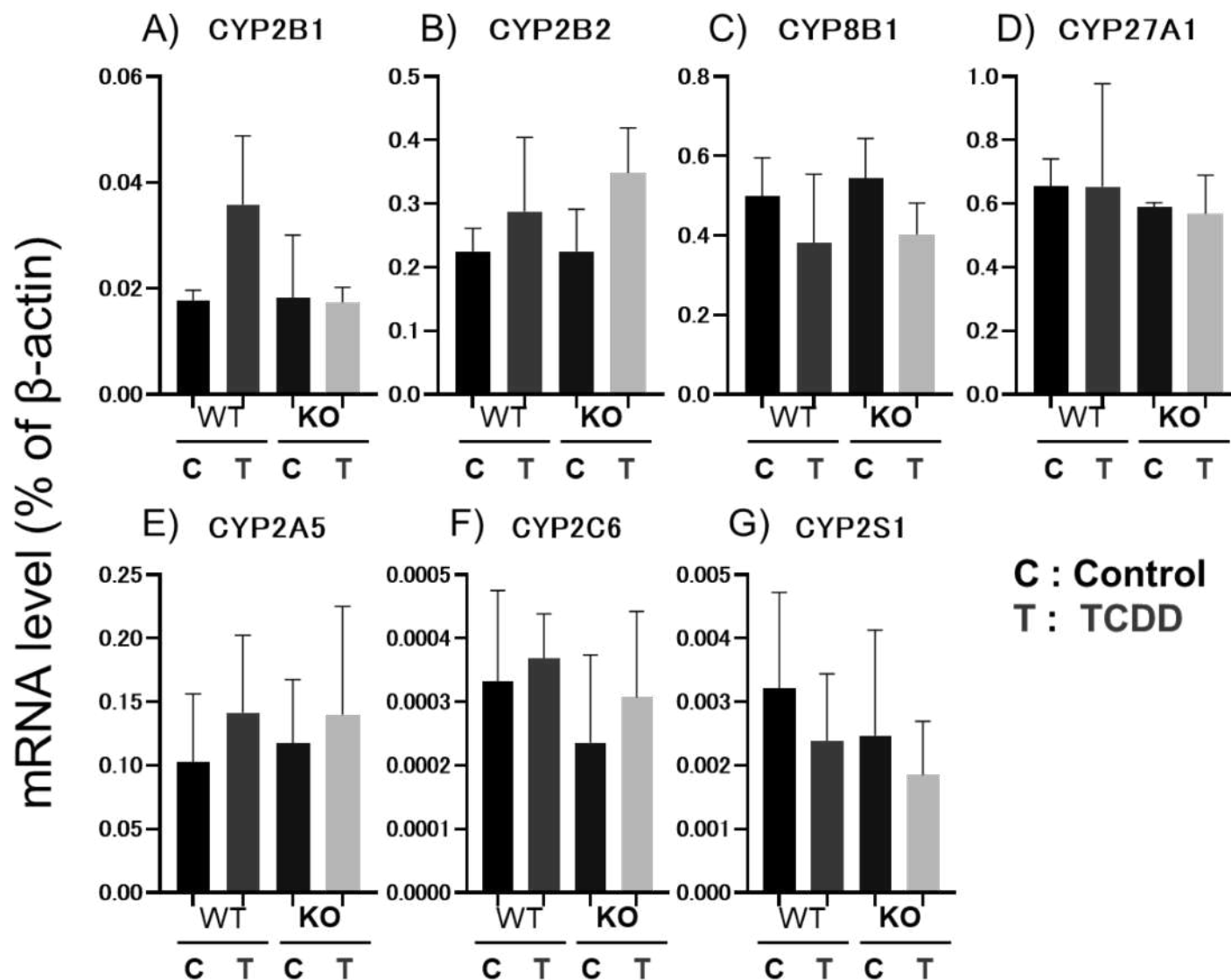


Fig. 4. Hepatic mRNA expression of CYP isoforms in AHR-deficient rat fetuses at GD20. Each bar represents the means $\pm$ S.E.M. of 5 fetuses which were removed from different dams.

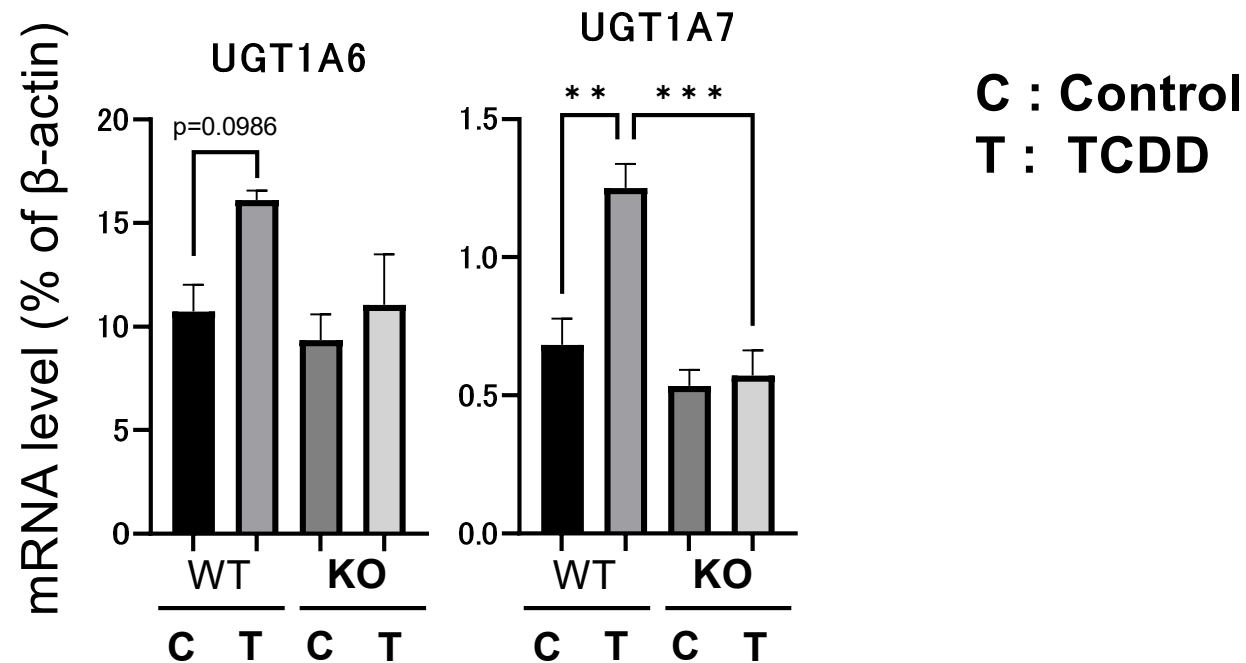


Fig. 5. Hepatic mRNA expression of UGT isoforms in AHR-deficient rat fetuses at GD20. Each bar represents the means $\pm$ S.E.M. of 5 fetuses (each number was shown in the parenthesis) which were removed from different dams. Significantly different between the pair indicated: **, $p<0.001$; ***, $p<0.001$. Abbreviations used: UGT, uridine diphosphate glucuronosyltransferase.

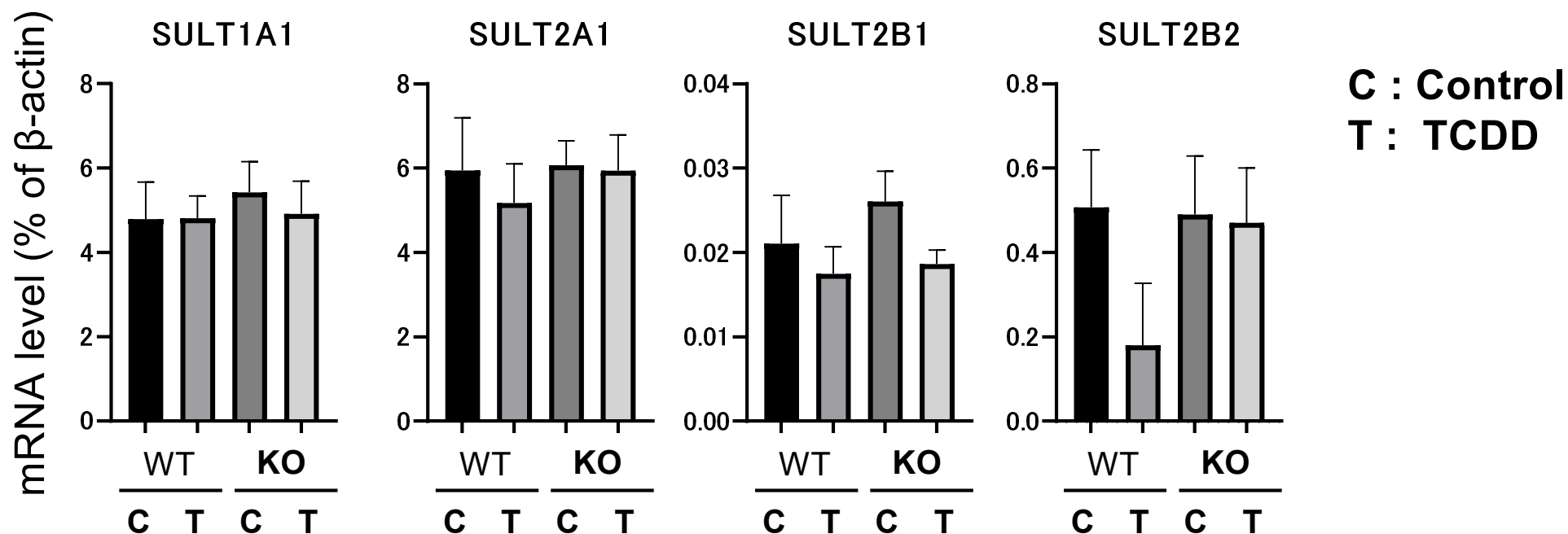


Fig. 6. Hepatic mRNA expression of SULT isoforms in AHR-deficient rat fetuses at GD20. Each bar represents the means $\pm$ S.E.M. of 5 fetuses (each number was shown in the parenthesis) which were removed from different dams. Abbreviations used: SULT, sulfotransferases.

mRNA level (% of β -actin)

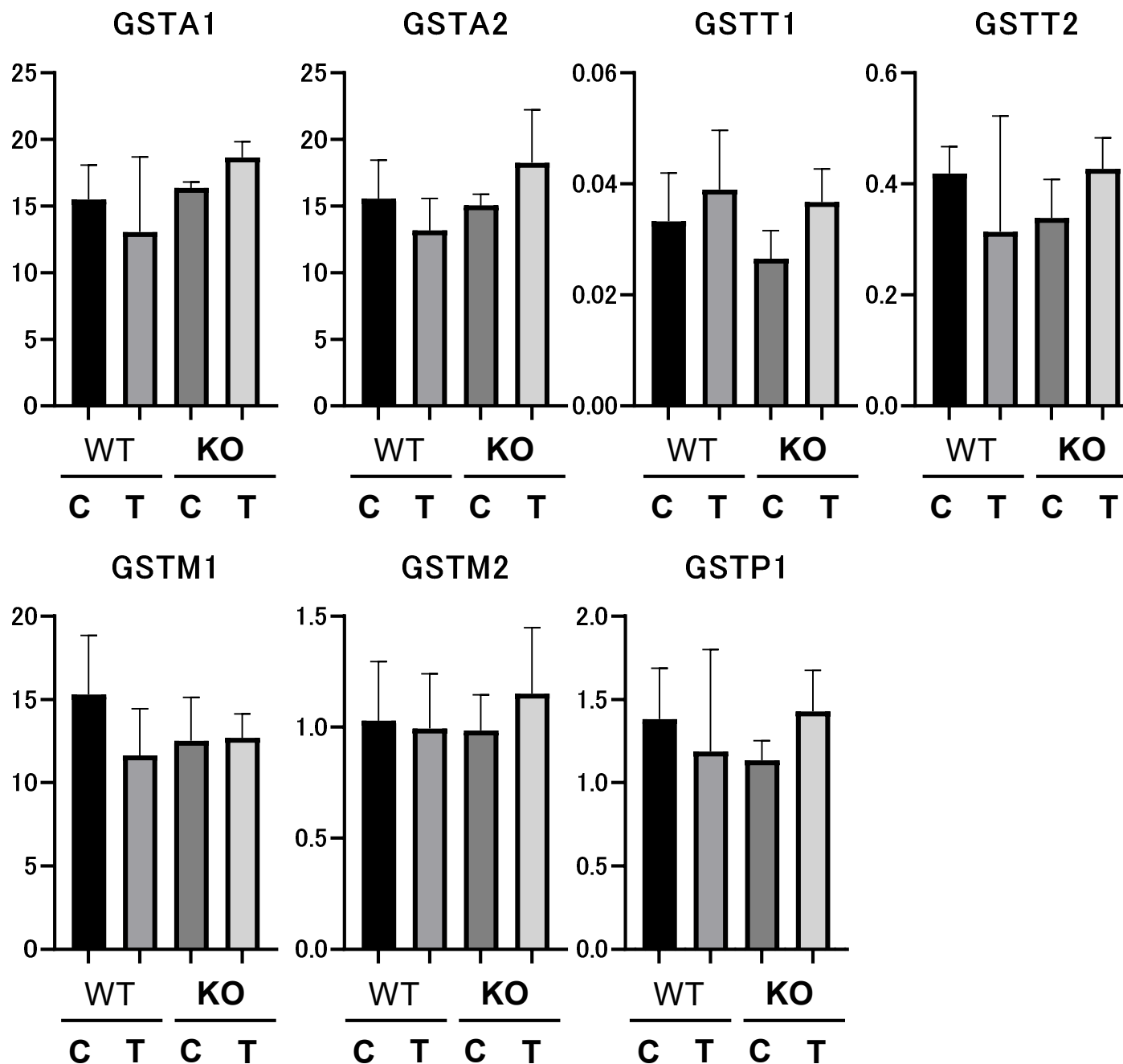


Fig. 7. Hepatic mRNA expression of GST isoforms in AHR-deficient rat fetuses at GD20. Each bar represents the means $\pm$ S.E.M. of 5 fetuses (each number was shown in the parenthesis) which were removed from different dams. Abbreviations⁸² used: GST, glutathione *S*-transferase.

ヒト末梢感覚神経における AHR シグナルを介した皮膚炎の制御機構の解明

研究分担者 山村 和彦 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 講師

研究要旨 本研究では、AHR を介した末梢神経と皮膚炎の関連を研究しており、油症患者における症状の病態解明を進めている。今回、ヒト表皮角化細胞を AHR リガンドで暴露し RNA-seq 解析を行った結果、複数のリガンドで共通して SMN2 の発現上昇を認めた。さらに油症患者血清を解析したところ、SMN2 濃度は男性患者で有意に上昇する一方で女性では上昇を認めなかった。また、SMN2 濃度は患者血清 PeCDF 濃度や神経症状との関連を示さなかった。SMN2 は AHR 刺激により誘導され、油症男性患者に特異的な変化を示す可能性があり、今後油症に関連する他の症状や発がんとの関係を探求していく。

A. 研究目的

油症は PCB 類とダイオキシン類の混合中毒であり、ダイオキシンの代表的な受容体の一つである AHR を介してさまざまな皮膚障害を引き起こすことが知られている。ダイオキシン類の中でも 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF (ペンタクロロジベンゾフラン) は毒性が高く、今なお油症患者血中において高い濃度で検出される。また、PeCDF の血中濃度は黒色面皰という皮膚の良性腫瘍のほかに、ざ瘡様皮疹といった炎症を伴う皮膚疾患とも関連があると報告されている (福岡医学雑誌 96(5), p164-168, 2005)。加えて油症患者では感覚の低下やしびれといった感覚障害の頻度も多い。最近の研究では、AHR を過剰発現させたマウスにおいて皮膚の表皮内神経伸長が促され、皮膚炎が惹起されるという機序が報告され、AHR に関連した皮膚と神経のクロストークも注目されつつある。本研究の目的は、AHR を介した末梢神経と皮膚炎の関連を研究することで油症の病態を解明し、新たな治療標的を同定することである。

B. 研究方法

昨年度はヒト iPS 細胞から誘導された末梢神経細胞を複数の AHR リガンドで刺激し、遺伝子変化を網羅的に解析した。皮

膚と末梢神経双方の影響を探求するため、今年度は正常ヒト表皮角化細胞を AHR リガンドで刺激し、遺伝子変化を解析した。AHR リガンドは昨年同様、酸化ストレス応答を誘導する物質: Benzo[a]pyrene (BaP)、炎症誘導する働きがあり PM2.5 としても知られる物質: デイゼル排気由来粒子状物質 DEP (Diesel Exhaust Particles)、抗酸化作用があり、AHR モジュレータとして知られる物質: Tapinarof、炎症を抑える内因性リガンドとして知られる物質: IAlD (Indole-3-aldehyde) を用いた。ヒト表皮角化細胞を培養し、これらの物質に 6 時間暴露したのちに細胞を回収、mRNA を抽出し、RNA-seq で網羅的に遺伝子発現解析を行なった。

次に、変化のあった遺伝子について、実際の油症患者の症状と関連があるかどうかを解析するため、保存してある患者凍結血清中のタンパク濃度と、データベースに保管してある症状との相関を検討した。比較対照群は年齢と性別分布のマッチした症状のない油症検診受診者のうち、血中 PeCDF 濃度が正常の受診者とした。統計解析方法について、2 群間検定は Mann-Whitney U test, 多群間検定は Kruskal-Wallis test, 2 変数間の相関は

Spearman's rank correlation coefficient を用いた。患者基本属性は以下の通りである。

〈比較対照群〉

合計 15 人(男性 8 人、女性 7 人)

平均年齢: 65.9 歳(標準偏差±9.7)

中央値: 64 歳

血清 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度(pg/g lipids)

平均値: 10.1 (標準偏差±3.9)

中央値: 9.3

〈患者群〉

合計 25 人(男性 12 人、女性 13 人)

平均年齢: 68.0 歳(標準偏差±6.8)

中央値: 69 歳

血清 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度(pg/g lipids)

平均値: 407.4.1 (標準偏差±195.4)

中央値: 363.0

血清 PeCDF 濃度について、比較対照群 vs 患者群, 男性(M)患者 vs 女性(F)患者のグラフをそれぞれ Fig 1A と Fig 1B に記す。

C. 研究結果

正常ヒト表皮角化細胞に対する BaP, DEP, Tapinarof, IAIId 暴露でそれぞれユニークな遺伝子発現変化が得られた。この中で、複数の AHR リガンドで共通して上昇する遺伝子として、SMN(Survival Motor Neuron)2 をみいだした。SMN2 は運動ニューロンの生存に関与すると報告されている遺伝子で、組織ではユビキタスに発現が報告されているが、中枢神経で特に発現が高いとされている。この遺伝子についてヒト表皮角化細胞では BaP, DEP, IAIId 暴露でそれぞれ 207 倍、274 倍、29 倍の発現上昇がみられた。Tapinarof 暴露による発現の上昇は認められなかった。この SMN2 について、血清タンパク濃度を測定したところ、油症男性患者で有意な上昇が認められた(Fig 1C)。興味深いことに油症女性患者

では上昇が認められなかった。この SMN2 濃度と PeCDF 濃度の相関を解析したが、関連性はなかった(Fig 1D)。

次に、全身症状(倦怠感)、神経症状(痛み、痺れ)、皮膚症状(黒色面皰、ざ瘡様皮疹、色素沈着)との関連を解析した。

これまで報告されてきた通り、油症患者の皮膚症状と血清 PeCDF 濃度は関連がみられ、ざ瘡様皮疹のある患者では血清 PeCDF 濃度は高値を示した(Fig 2E)。黒色面皰についても患者血清中の PeCDF 濃度は高い傾向を示した(Fig 2D)。倦怠感と痛みとの関連について、可能性は考えられたが今回のサンプル数では有意な差は認めていない(Fig 2A, 2B)。痺れと色素沈着とは関連を認めなかった(Fig 2C, 2F)。

さらに、血清 SMN2 濃度と症状との関連を調べた。解析数の少ない群がいくつかあるものの、これらの症状の有無で有意な血清 SMN2 の濃度差は認められなかった(Fig 3A-F)。

D. 考察

今回、正常ヒト表皮角化細胞へ AHR リガンドを暴露して上昇する遺伝子として、SMN2 をみいだした。複数の AHR リガンドで上昇がみられたが、Tapinarof だけは発現上昇がみられなかった。この遺伝子は神経を含めてユビキタスに発現するとされているが、その働きはよくわかっていない。血清 PeCDF 濃度の高い油症患者で SMN2 を測定したところ、男性患者で上昇を認めた。しかしながら、血清 SMN2 濃度と PeCDF 濃度には相関性はなかった。また、血清 PeCDF 濃度が皮膚症状と関連を示す一方で、SMN2 濃度は全身症状(倦怠感)、神経症状(痛み、痺れ)、皮膚症状(黒色面皰、ざ瘡様皮疹、色素沈着)との明らかな関連はなかった。

本研究の結果において特筆すべき点として、油症男性患者のみで有意に血清 SMN2 濃度が上昇していた点が挙げられる。近年、SMN2 はスプライシングを介してがん抑制遺伝子である p53 の活性化を制御するこ

とが報告された (Van Alstyne M et al, Genes Dev. 2018)。油症男性患者では悪性新生物 (全がん) および肺がんの死亡率が高いことが報告されており (Onozuka D et al, Am J Epidemiol. 2009)、SMN2 の濃度上昇と発がんについてより詳細に解析を行なっていく必要があると考えられる。

一方で血清 PeCDF 濃度の高かった女性患者で SMN2 濃度の上昇がほとんどみられなかったことについて、なぜ油症患者の血清 SMN2 濃度において性差が生じたのかについても同様に調べていく必要があると考えられる。

今後、これらの課題について対象となる試料の数を増やし、より詳細な情報をもとに解析を行うことで、血清 SMN2 濃度と油症の病態との関わりを調べていく。

E. 結論

AHR リガンド刺激によりヒト表皮角化細胞で SMN2 発現が誘導されること、さらに油症患者において血中 SMN2 が男性特異的に上昇することを初めて明らかにした。一方で、SMN2 濃度は PeCDF 濃度や臨床症状とは関連を示さず、その生理的・病態的意義は未解明である。

近年、SMN2 がスプライシングを介して p53 活性を制御することが報告されていることから、SMN2 の上昇が発がんリスク (特に男性油症患者におけるがんの死亡率増加) と関連する可能性が示唆される。今後は症例数を拡大し、性差の機序および SMN2 と発がんとの関連について詳細な解析を行なっていく。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

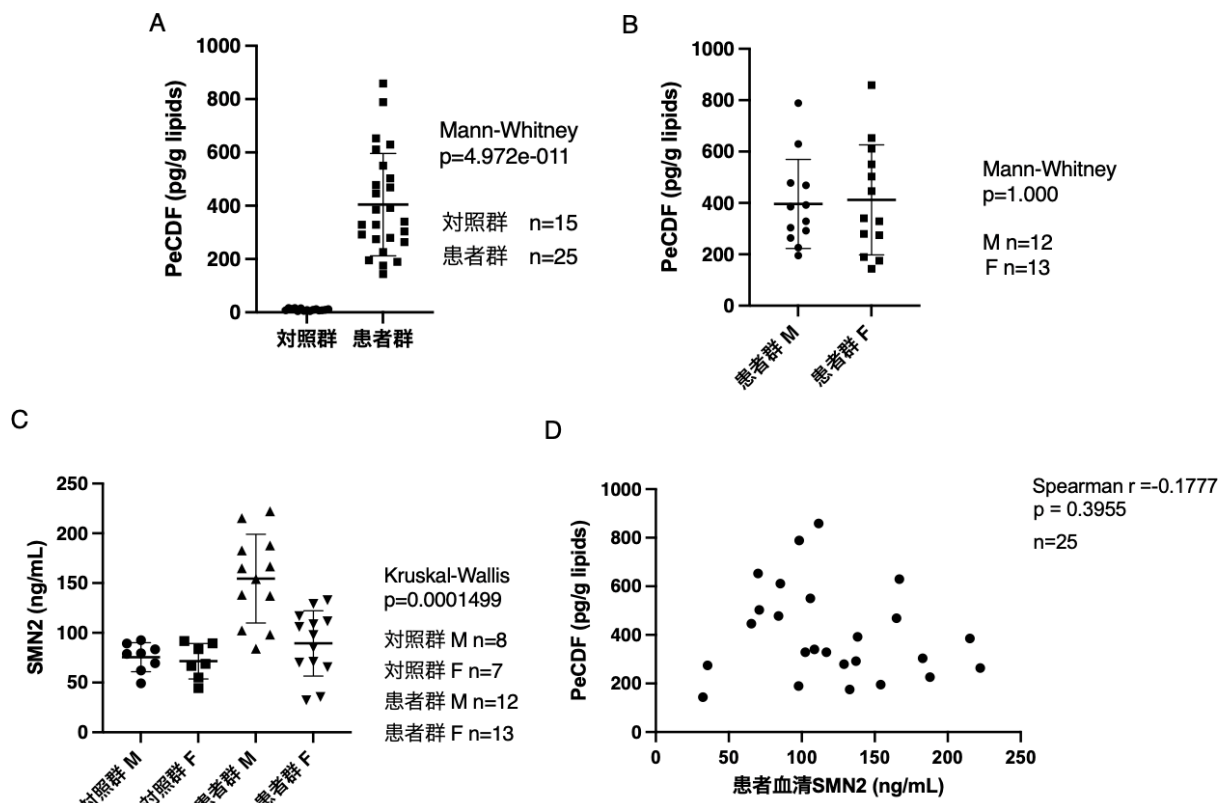


Figure 1

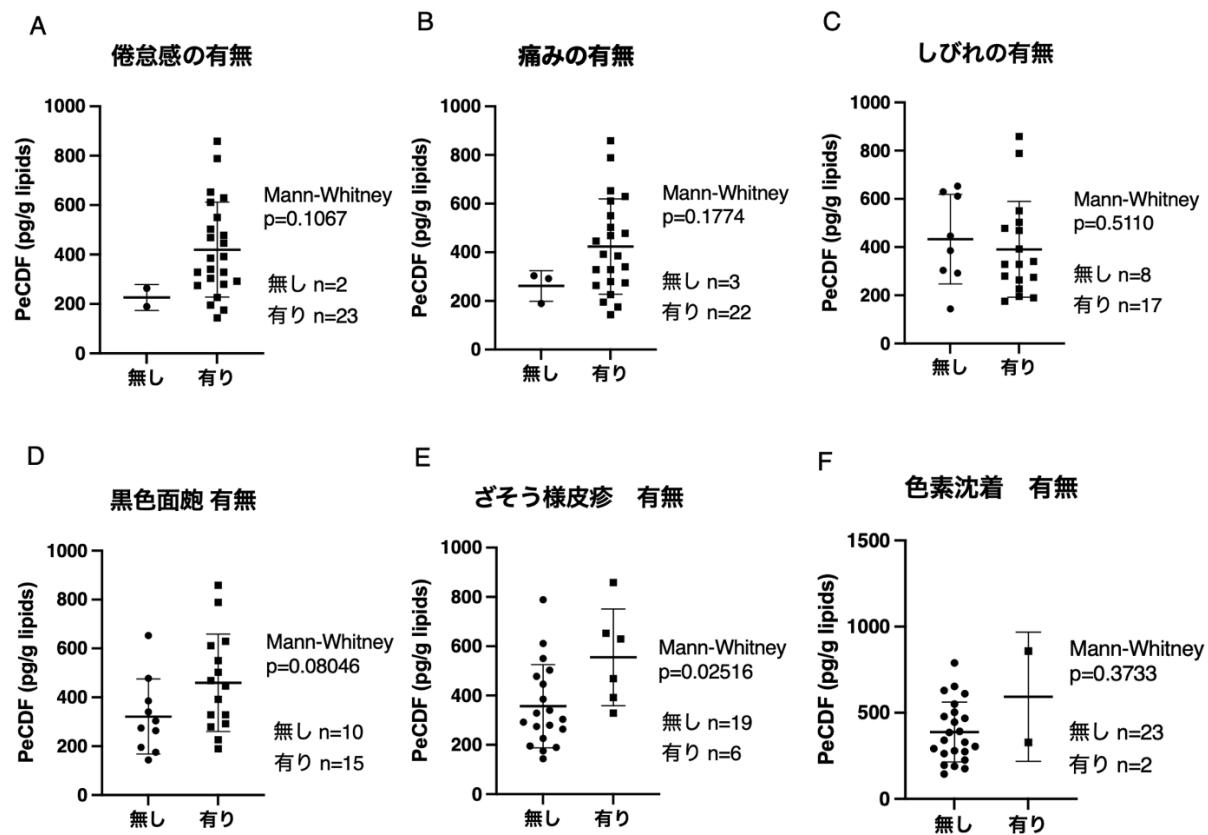


Figure 2

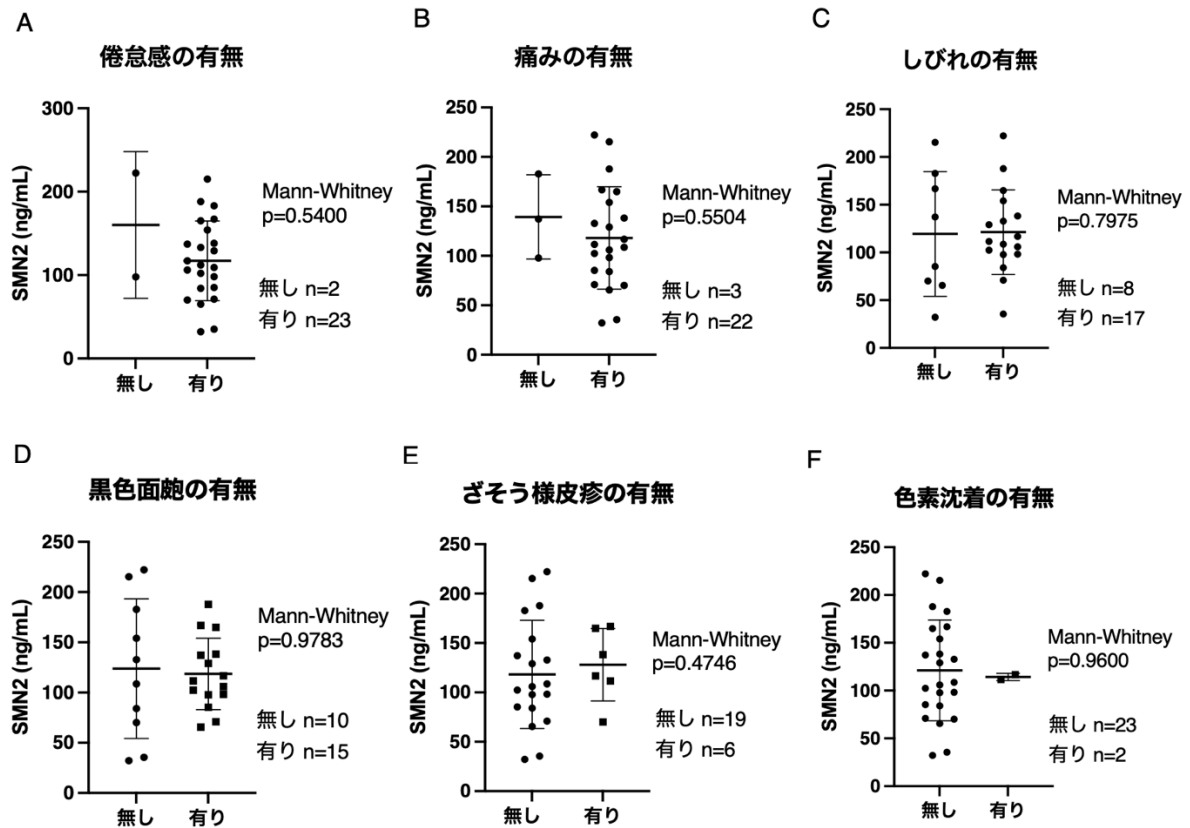


Figure 3

分担研究報告書

脂漏部位からの皮膚ガス分析による非侵襲的ダイオキシン評価

研究分担者 室田 浩之 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授

研究協力者 芦田 美輪 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教

研究要旨

油症患者の病態理解とダイオキシンの長期的影響について、非侵襲的なアプローチを模索し、皮膚表面から採取した皮膚ガス成分について検討してきた。ダイオキシンが親脂性の性質を有することを踏まえ、今年度は脂漏部位である額からのより簡便なサンプリング方法を検討した。複数の採取媒体を比較した結果、キムワイプが最も低ノイズかつ高感度に成分を検出可能であった。キムワイプを用いて患者の額から採取した皮膚ガスを解析したところ、一部の成分において血中 PeCDF 濃度との相関が示唆された。

A. 研究目的

皮膚ガスは皮表から放散される揮発性代謝産物を含む物質の総称である¹⁻³。私たちはダイオキシンが皮脂から排泄されることに着目し⁴、油症患者では皮膚ガス中にダイオキシンに関連する物質が含まれるのではないかと仮説を立て、検証を行ってきた。

昨年度は対象者を拡充し解析を行った結果、通常では検出頻度が低いトリクロロメタンを検出したが、その意義を明らかにすることはできなかった⁵。

本年度は、ダイオキシンが親油性であり、その排出経路の一つとして皮脂腺が関与することから、脂漏部位である額からの皮膚ガスサンプリング法の確立を試みた。さらに、この方法によって得られた皮膚ガス成分と血中ダイオキシン濃度との関連について探索的に検討を行った。

B. 研究方法

対象：健常者 6 名（男性 6 名、平均年齢

47.2 歳：35～72 歳）、油症患者 9 名（男性 6 名、女性 3 名、平均年齢 75.2 歳：55～92 歳）

方法：①被験者（健常者）の額を、水道水で湿らせたキムワイプで軽くふき取り、自然乾燥させた。皮膚ガスに影響を与えないプラスチック手袋を装着し、キムワイプ、油取り紙、薬包紙を額に数回、約 10 秒間軽く押し当てた。媒体を密閉容器に入れ揮発成分を回収し、GC/MS にて分析した。

②被験者（油症患者）の額よりキムワイプを用いて皮膚ガスを採取し、GC/MS にて分析した。

解析：①各媒体における検出ピーク数およびノイズの影響を比較検討した。

②ピーク強度を算出し、血中 PeCDF との相関解析を行った。

本研究は長崎大学医歯薬学総合研究科、および五島中央病院の倫理審査委員会から承認され、すべての被験者に口頭およ

び文書によりインフォームドコンセントを取得し、文書による同意を得た上で実施した。

C. 研究結果

① キムワイプでは他の媒体と比較して検出ピーク数が多く、ノイズの少ない安定したクロマトグラムが得られた(図1)。一方、油取り紙および薬包紙ではピーク数が少なく、ノイズの影響が大きかった。

② 患者の額からは butylated hydroxytoluene や nonanal などの化合物が高頻度に検出されたが、これらは必ずしも PeCDF と相関を示さなかった。一方で、2-ethylhexanol は血中 PeCDF 濃度と負の相関を示した(図2)。酢酸、トルエンなどでも中等度の相関が認められた(表1)。その他の化合物については、相関の程度は限定的であった。

D. 考察

これまで油症患者における皮膚ガス研究は、患者に特異的に出現する揮発性成分の同定を主に試みてきた。しかし今回、例外なく観察される(測定頻度100%)⁶といわれる2-ethylhexanolが血中PeCDF濃度と負の相関を示した点は新たな知見であった。2-ethylhexanolは、可塑剤などの工業原料や化粧品などの成分として知られており、過去の皮膚ガス報告でも患者および健常者の全例で検出されている⁷。本研究でも全例で検出されており、そのピーク強度が血中PeCDF濃度と相関したことは、本成分がダイオキシン代謝や皮脂分泌の変化と関連している可能性がある。

採取方法に関しては、キムワイプを用いた拭き取り法が多くピークを安定して検出し、かつノイズの少ないクロマト

グラムが得られた。予備解析では、キムワイプで得られた皮膚ガス化合物は、従来法で得られたものと90%以上が合致していたことから、揮発性成分のみならず皮脂由来成分を含めた広範な化合物の回収が可能であり、より簡便な採取法として有用であると考えられる。

皮膚ガスは環境の影響を受けやすく⁸、採取条件のばらつきの影響を完全に排除することは困難である。採取部位の最適性については今後検討の余地があるが、ダイオキシンの排泄が特定部位に偏在するかについては明らかではない。また、ダイオキシンは加齢とともに体内に蓄積することが知られており⁹、年齢などの交絡因子の影響は十分に調整できていない。今後は対象者数の拡大、採取条件の標準化、交絡因子を考慮した解析が必要である。

E. 結論

キムワイプによる皮膚ガス採取法を確立し、候補バイオマーカーを抽出した。非侵襲的評価法としての可能性が示唆された。

F. 研究発表

あり(学会発表予定)

G. 知的財産権の出願・登録

なし

謝辞

ご協力いただいた油症患者、健常ボランティアの皆様、および油症研究にお力添え頂いた関係者の皆様に深謝致します。

H. 参考文献

1. Tsuda T, Ohkuwa T, Itoh H. Findings

- of skin aases and their possibilities in healthcare monitoring. In gas biology research in clinical practice, Yoshikawa T; Naito Y (Eds.) Krager: Basel, Switzerland, 2011, pp.125-132.
2. 関根嘉香、木村桂大、梅澤和夫 皮膚ガス測定は何に役立つか? におい・かおり環境学会誌 48 巻 6 号 410-417, 2017
 3. 津田孝雄、小松史哉、鈴木健志、伊藤宏、佐々木陽典、瓜田純久 皮膚ガスの疾病へのアプローチ 皮膚ガス 2-エチルヘキサノールの由来と透析中における変動 安定同位体と生体ガス: 医学応用 12 巻 1 号 45-54, 2020
 4. 古江増隆 油症における塩素ざ瘡と色素沈着の発症機序とその対策 aryl hydrocarbon receptor の役割. 福岡医学雑誌 111 巻 3 号 124-136, 2020
 5. 室田浩之、芦田美輪 油症患者における皮膚ガス分析の検証、令和 6 年度総括・分担報告書 79-82, 2025
 6. 津田孝雄 皮膚ガスの分析化学 基礎と応用 丸善出版 p114, 2025
 7. 室田浩之、村山直也 油症患者における皮膚ガス分析、令和 3 年度総括・分担報告書 54-57, 2021
 8. 室田浩之、芦田美輪 油症患者における皮膚ガス分析の追加検証、令和 4 年度総括・分担報告書 45-49, 2022
 9. Chen Q, Garabrant DH, Hedgeman E et al. Estimation of background serum 2,3,7,8-TCDD concentrations by using quantile regression in the UMDES and NHANES populations. Epidemiology. 2010 Jul;21 Suppl 4: S51-7

表1 血中 PeCDF 濃度と皮膚ガス化合物の相関（上位 5 種）

化合物	R^2
2-ethylhexanol	0.6869
acetic acid	0.4569
toluene	0.3042
methane sulfonyl anhydride	0.2751
acetic acid phenyl ester	0.2459

図1 各採取媒体における皮膚ガスの GC/MS クロマトグラムと比較

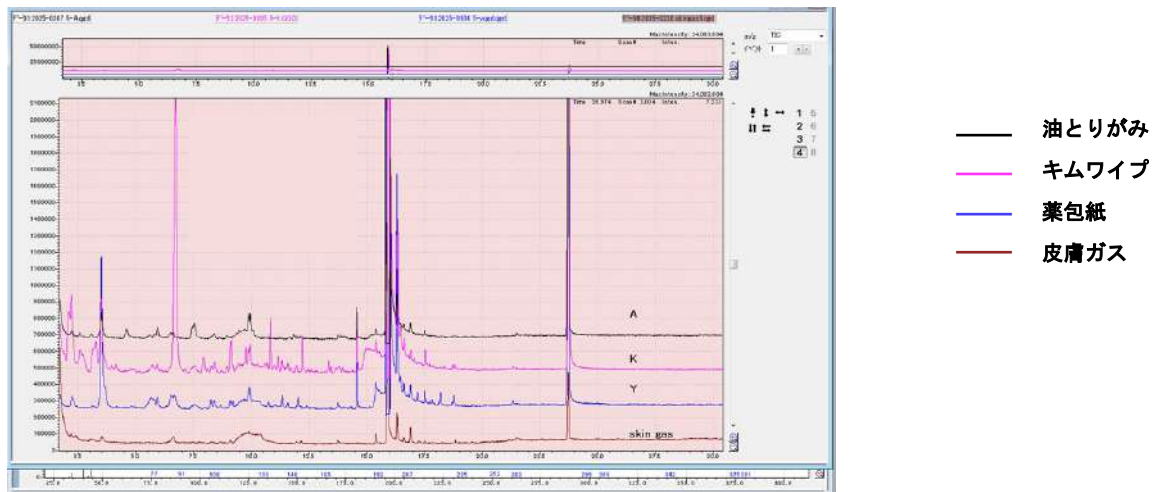
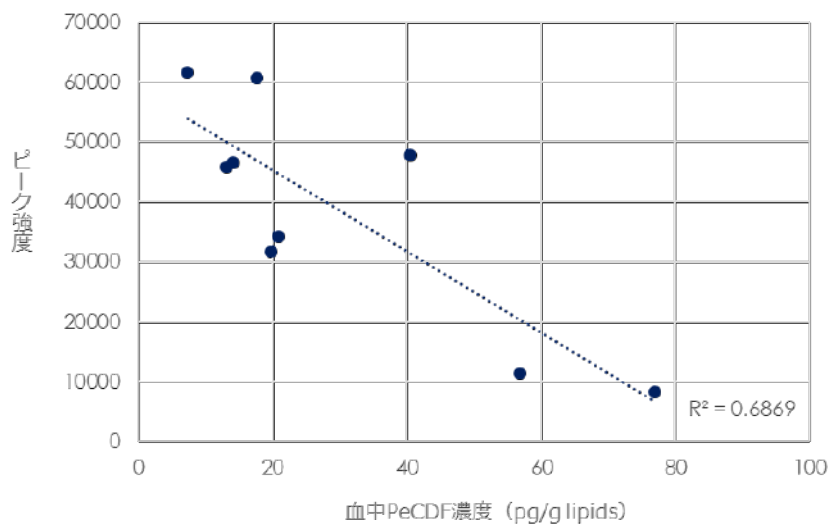


図2 2-ethylhexanol と血中 PeCDF 濃度との関係



PDE4 阻害と AhR シグナルのクロストークによる皮膚免疫の制御

研究分担者 辻学 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 准教授

研究要旨 本研究では、ヒト表皮細胞 (keratinocytes) における PDE4 阻害薬ジファミラストと芳香族炭化水素受容体 (AhR) モジュレーターであるタピナロフの分子間クロストークを、皮膚バリア機能制御および薬剤代謝修飾の観点から解析した。ジファミラスト (5 μM) とタピナロフ (0.5 μM) の同時投与は、フィラグリン (FLG) およびロリクリン (LOR) の発現を相乗的に増強した。その機序として、AhR がシグナル統合の必須ハブとして機能しつつ、cAMP/CREB 経路が補完的に介入する構造が明らかとなった。さらに、ジファミラストによる CYP1A1 発現の抑制がタピナロフの代謝分解を遅延させ、薬理作用を持続・増幅させている可能性が示唆された。本知見は、外用薬によるアトピー性皮膚炎における皮膚バリア障害の改善に関する分子生物学的基盤を提供するものである。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎は、皮膚バリア機能の破綻と免疫異常を本態とする慢性炎症性疾患であり、その治療において PDE4 阻害薬ジファミラストおよび AhR モジュレーターであるタピナロフはいずれも高い臨床効果を示す。我々はこれまでの研究から、ヒト表皮細胞においてジファミラストが AhR の核内移行を誘導する一方で、転写共役因子 ARNT のリクルートを伴わないという特異的な機序を解明した。この ARNT リクルート欠如により、ジファミラストはタピナロフによる CYP1A1 誘導を選択的に抑制するという、薬剤間のクロストークを生じることが判明している。

本研究の目的は、この PDE4 阻害を介した AhR シグナルの変調が、皮膚バリア機能において重要なタンパクである FLG および LOR の発現に対してどのような影響を及ぼすかを解明することである。特に、AhR および CREB のシグナル経路の関与を、RNA 干渉法により個別に評価することで、薬剤の相乗効果を生み出すシグナルの解明を目指した。

B. 研究方法

【細胞モデルおよび薬剤投与条件】

正常ヒト表皮細胞 (Normal Human Epidermal Keratinocytes: NHEKs) を細胞モデルとして使用した。ジファミラスト (5 μM) およびタピナロフ (0.5 μM) を単独または同時に投与し、細胞応答を評価した。各薬剤の濃度は、細胞毒性を示さず、かつ目的のシグナル経路を活性化する既報の至適濃度設定を採用した。

【遺伝子・タンパク発現解析】

薬剤投与後の細胞から Total RNA およびタンパクを抽出し、定量的リアルタイム PCR 法 (qRT-PCR) により FLG および LOR の mRNA 発現量を定量した。タンパクレベルの発現変動についてはウェスタンブロッティング法により解析した。

【機序解析：RNA 干渉法】

シグナル経路の寄与度を個別に評価するため、AhR および CREB を標的とした small interfering RNA (siRNA) (si_AHR、si_CREB) を用いたノックダウン実験を実施した。各 siRNA の導入効率は qRT-PCR およびウェスタンブロッティングにより確認した。

(倫理面への配慮)

本研究で使用した細胞は、市販の細胞であり、提供元の倫理指針および個人のプライバシー保護に関する規定を遵守して実施した。また、実験計画は施設内の規定に従い、適切な安全管理下で行った。

C. 研究結果

1. 皮膚バリアタンパク発現の相乗的増強

ジファミラストおよびタピナロフはいずれも単独投与でFLGおよびLORの発現を有意に増加させた。同時投与 (Mix) 群では、各単独投与群の効果を上回る相乗的な発現増強が認められた。この相乗効果は mRNA およびタンパクの両レベルで確認された (図 1)。

2. AhR の必須性の証明

si_AHR による AhR のノックダウンは、非処置基底状態でのFLGおよびLOR発現を低下させるとともに、ジファミラスト、タピナロフ、および両薬剤の同時投与による FLG・LOR 増加作用を消失させた。この結果は、両薬剤の単独・相乗効果のいずれにおいても、AhR が中心的シグナルハブとして必須の役割を担っていることを示している (図 1)。

3. cAMP/CREB シグナルの関与

si_CREB を用いた CREB のノックダウン実験では、mRNA レベルにおいて、ジファミラストおよびタピナロフ単独投与による FLG・LOR 増加には影響を与えなかった。一方、同時投与による相乗効果は部分的に抑制された。タンパクレベルでは、si_CREB によりジファミラスト単独投与による FLG および LOR 増加作用がキャンセルされた (図 2)。mRNA レベルとタンパクレベルにおける解離現象は、転写活性化のピークとタンパク蓄積のピーク間の時間的なものに起因するものと推察される。

D. 考察

本研究の結果から、ジファミラストとタピナロフによる皮膚バリアタンパク誘導の相乗効果は、AhR を必須の作動軸としつつ、cAMP/CREB 経路が補完的に介入することで成立していることが示唆された。ジファミラストは PDE4 を阻害することで cAMP を増加させ、PKA を活性化して CREB をリン酸化する。一方、タピナロフは AhR/ARNT シグナルを介して XRE (Xenobiotic Response Element) 依存性の転写を促進する。両薬剤の同時投与においては、これら二つの転写経路が相互的に作用し、FLG および LOR 遺伝子のプロモーター活性を相乗的に増強するものと考えられる。

本研究で示されたジファミラストによる CYP1A1 発現の抑制は、臨床的に重要な意義を持つ。タピナロフは CYP1A1 の主要な代謝基質であり、CYP1A1 によって速やかに分解される。ジファミラストの併用により CYP1A1 発現が抑制されると、タピナロフの分解が遅延し、細胞内における有効濃度が維持・延長されることになる。この代謝修飾が、同時投与による相乗的なバリアタンパク増強効果の一因をなしている可能性が高い。この機序は、両薬剤の併用でより大きな薬理効果を得られることを示唆しており、臨床的意義がある。

油症の病態であるダイオキシン類等の非分解性・高親和性 AhR リガンドに曝露された状況では、持続的な AhR の活性化が過剰な CYP1A1 誘導をもたらし、活性酸素の産生による酸化ストレスが皮膚炎症を増悪させる。本研究が示したジファミラストによる CYP1A1 抑制作用は、このような油症による酸化ストレスに対する防御的機序として機能するという点で重要な示唆を与えるものである。

si_CREB 実験における mRNA とタンパクレベルの結果の乖離は、転写と翻訳・タンパク安定性の時間的ダイナミクスの差異に起因すると推察される。今後は、複数の

時点でのサンプリングを行う時系列解析により、cAMP/CREB 経路が AhR 依存的転写調節に及ぼす影響の全体像をより精緻に解明する必要がある。

E. 結論

本研究により、ヒト表皮細胞においてジファミラストはタピナロフによる皮膚バリアタンパク（FLG および LOR）の誘導を相乗的に増強することが明らかとなった。この相乗効果は、AhR を不可欠なシグナルハブとして、cAMP/CREB 経路が補完的に作動するシグナル統合機構によって成立しており、さらにジファミラストによる CYP1A1 抑制がタピナロフの作用時間を延長するという代謝修飾機構が付加的に寄与していると考えられる。

皮膚バリア機能の向上という治療目標において、ジファミラストとタピナロフの併用療法は、単なる相加効果を超えた相乗的有効性を発揮する可能性が示唆される。本知見は、アトピー性皮膚炎における併用戦略の根拠となりうるものであり、今後のさらなる検討が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1 ヒト表皮細胞におけるFLGとLORのmRNA発現

ヒト表皮細胞に対して、ジファミラスト(5 μ M)、タピナロフ(500 nM)を72時間投与し、FLGとLORのmRNAを測定した。CREBとAHRのmRNAはsiRNA導入効率を確認するために測定した。N=3, * は Scram、無刺激群と比較。* p< 0.05

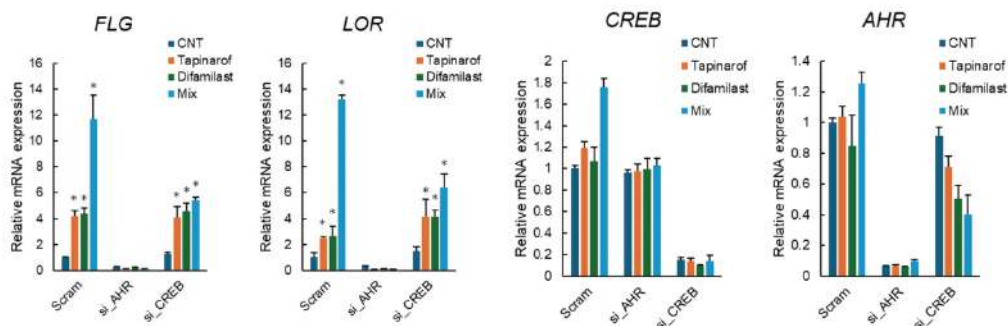
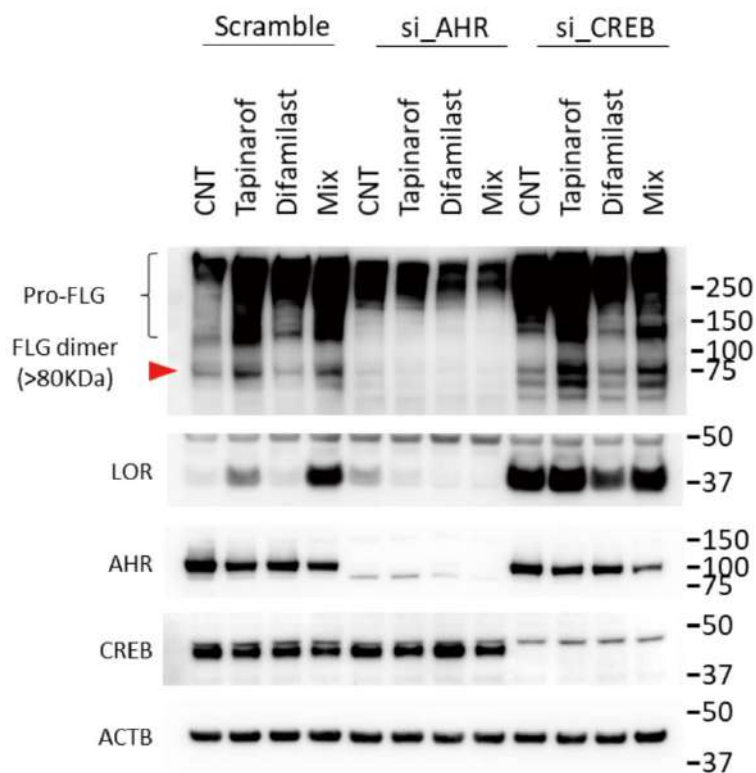


図2 ヒト表皮細胞におけるFLGとLORのタンパク発現

ヒト表皮細胞に対して、ジファミラスト(5 μ M)、タピナロフ(500 nM)を72時間投与し、タンパク発現量を測定した。Representative data。



分担研究報告書

膠原病の皮疹形成機序における AHR の役割に関する研究

研究分担者 冬野 洋子 九州大学病院皮膚科 講師

研究要旨 膠原病様ケラチノサイトモデルに対する AHR リガンドの抗炎症作用とその機序を解明した。

A. 研究目的

膠原病の皮疹形成機序には未解明な点が多く、膠原病の病態への AHR の関与について検討を行っている。今回は、膠原病様ケラチノサイトモデルに対する AHR リガンドの効果について検討を行った。

B. 研究方法

膠原病様 in vitro ケラチノサイトモデル (Kuba-Fuyuno Y, J Dermatol. 2024) に対する AHR リガンドによる抗炎症作用の機序について、NHEK s を用いて、in vitro で qRT-PCR で mRNA 発現を検討した。さらに、蛍光免疫染色で核内と、細胞質での転写因子群の発現の検討、およびウエスタンブロットで、核と細胞質での転写因子群のタンパク質発現を確認し、抗炎症作用・経路について検討を行った。さらに、膠原病患者の生検組織検体を用いて転写因子群の発現について、免疫染色で検討した。過去の報告から考えられる炎症誘導経路に AHR が関与している可能性があり、AHR リガンドによる抗炎症作用の仮説をたて、遺伝子発現を抑制させ、評価を行った。

(倫理面への配慮)

ヒト検体を用いた実験は後ろ向きの観察研究として、九州大学の倫理審査委員会にて承認されている。

C. 研究結果

AHR リガンドにより、膠原病様ケラチノサイトモデルで見られた抗炎症作用のメ

カニズムとして AHR に依存性のサイトカインシグナル伝達系の抑制によることを明らかにした。

D. 考察

ヒトケラチノサイトにおける、AHR リガンドによる抗炎症作用の機序を明らかにした。AHR とサイトカインシグナル伝達経路との関連を明らかにすることで、今後、ダイオキシン類による炎症、油症症状を緩和させ得る可能性がある

E. 結論

今回検討を行った AHR リガンドによる膠原病様ケラチノサイトに対する AHR 依存性のサイトカイン伝達系を明らかにした。

F. 研究発表

1. 学会発表

第124回日本皮膚科学会総会 2025年5月29日 神奈川

.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

高残留性 PCB138 のラットにおける *in vivo* 代謝に関する研究

研究分担者 太田 千穂 中村学園大学栄養科学部 准教授

研究協力者 古賀 信幸 中村学園大学 名誉教授

研究要旨 高残留性で 245 型 PCB として有名な PCB138 のラットにおける *in vivo* 代謝を調べた。すなわち、未変化体および代謝物 (3'-OH 体) の肝臓および血液中への分布、さらに糞尿中への排泄について調べ、246 型 PCB の PCB140 と比較した。まず、糞中 PCB138 を分析した結果、約 85% が吸収されることが示唆された。また、糞中代謝物として 3'-OH 体が検出され、投与後 2 日間で、投与量の 0.62% に相当した。一方、PCB140 の場合、代謝物 (3'-OH 体) は PCB138 代謝物の 4.3 倍であった。次に、尿中では、両 PCB ともに、未変化体と代謝物のいずれも検出されなかった。さらに、投与後 4 日目の肝臓において、PCB138 未変化体および代謝物は、それぞれ投与量の 3.3% および 0.04% が検出された。一方、PCB140 の場合、未変化体は投与量の 0.39% と少なく、また代謝物は検出されなかった。これらの結果から、PCB 代謝において、代謝されやすさは、肝臓への蓄積性とよく相関していることが改めて明らかになった。

A. 研究目的

PCB138 は、PCB153 および PCB180 とともに、2,4,5-三塩素置換ベンゼン (245 型) を有する化学構造をしていることから、非常に代謝されにくく、しかもヒトの血液、脂肪組織および肝臓で高濃度検出される高残留性 PCB 異性体として、よく知られている (Fig. 1A)。

当研究室では、これらに対応した 2,4,6-三塩素置換ベンゼン (246 型) を有する PCB140、PCB155 および PCB182 (Fig. 1B) についてラット肝ミクロゾームを用いて代謝を調べたところ、いずれも 245 型 PCB に比べ、非常に代謝されやすく、主に代謝物 M1 (3-または 3'-OH 体) を生成すること、さらに、ラットを phenobarbital 前処理すると、代謝物 M1 の生成が、対応する 245 型 PCB に比べ、10~50 倍に著しく促進されることを明らかにした。これらの事実は、245 型 PCB が難代謝性であることが、結果的に生体における高残留性をもたらしていることを示唆している。そこで、

本年度は、245 型の PCB138 のラットにおける *in vivo* 代謝、すなわち、未変化体および代謝物 M1 について、肝および血中への分布、さらには糞尿中への排泄について調べ、対応する 246 型の PCB140 と比較した。

B. 研究方法

① 投与計画：実験動物として Wistar 系雄性ラット (体重約 200 g) を 6 匹用いた。実験期間中、ステンレス製代謝ケージにて個別に飼育し、飼料 CE-2 (日本クレア) を水とともに自由摂取させた。代謝実験室は、温度 $23.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 5\%$ に保持し、照明時間は明期 7:00~19:00 とした。1 週間馴化後、PCB138 (50 mg/kg body、コーン油に溶解) を 1 回経口投与した。投与後、4 日間の糞と尿を採取し、さらに 4 日目に屠殺し、採血するとともに、肝臓を摘出した。② 糞の分析：糞は乾燥 (60°C 、48 hr) 後、粉碎した。粉末にした糞 5 g に内部標準物質 (IS、PCB208) を添加後、ソ

ックスレー抽出器を用いて、acetone-*n*-hexane (2:1, v/v)で75℃、16 hr 抽出した。その後、濃縮し、*n*-hexaneで20 mLに調整した。得られた抽出試料1 mLを、10%NaOH下でジメチル硫酸とともに、100℃、30 min メチル化した。反応後、未変化体とその代謝物を chloroform と *n*-hexane で抽出した後、有機層を濃縮乾固し、さらに *n*-hexane に溶解して GC-ECD および GC-MS に付した。③ 尿の分析：尿は塩酸を加えて酸性にし、20 mL に調整した。尿 (1.0 mL) は、IS を添加後、chloroform-methanol (2:1, v/v) 1 mL と *n*-hexane 3 mL を加え、ボルテックス(室温、1 min)および振盪機(室温、30 min)で抽出後、遠心分離(3,000 rpm、15 分間)した(2 回抽出)。その後、有機層を合わせて濃縮後、ジアゾメタンでメチル化した。以下同様に分析した。未変化体とその代謝物は PCB138 の検量線により定量した。

④ 血液の分析：血清は、血液を血清分離剤セパクリーン-A (栄研器材) に採取後、室温で 30 min 放置後、遠心分離(3,000 rpm、15 分間)して得た。血清(0.5 mL)に IS を添加後、以下の操作は、尿の分析と同様に行った。⑤ 肝臓の分析：摘出した肝臓は、生理食塩水にて灌流処理した。灌流後、肝臓 1 g に IS を添加し、ポッター型ホモジナイザー中、acetone-*n*-hexane (2:1, v/v)でホモジナイズした。次に、有機層を無水硫酸ナトリウムカラムで脱水後、*n*-hexane で同様に抽出した (2 回抽出)。さらに、*n*-hexane 濃縮後、ジアゾメタンでメチル化した。

GC-ECD の測定条件は次の通りである。分析機器、GC-ECD (Agilent 製)；カラム、DB-1 フューズドキャピラリーカラム(30 m × 0.25 mm i.d.、0.25 μm フィルム厚、J&W Scientific 製)；キャリアーガス、高純度 N₂ (6.5 mL/min)；カラム温度、210℃；注入口温度、270℃；検出器温度、350℃。次に GC-MS の測定条件を示す。分

析機器、GCMS-QP2010(島津製)；カラム、DB-1 フューズドキャピラリーカラム(30 m × 0.25 mm i.d.、0.25 μm フィルム厚、J&W Scientific 製)；キャリアーガス、He (1 mL/min)；カラム温度、70℃ (1.5 min) - 20℃/min - 230℃ (0.5 min) - 4℃/min - 280℃ (5 min)；注入口温度、250℃；検出器温度、230℃。

(倫理面への配慮)

ラットの屠殺に際しては、「中村学園大学における動物実験のための指針」を遵守し、苦痛をできるだけ軽減するため、セボフルランで麻酔後、頸動脈からの脱血により屠殺した。(承認番号 動倫 2022-2)

C. 研究結果

糞の分析：まず PCB138 未変化体が、投与後 4 日間で、投与量の約 15%が検出された(Table 1)。この結果から、85%が吸収されたものと考えられる。246 型の PCB140 の場合、95%が吸収されたことから、PCB138 の吸収率は PCB140 より 10%程度低いことが示唆された。また、*in vitro* 代謝と同様に、代謝物 M1 (3'-OH 体)も検出された。代謝物 M1 は、投与後 1 日目に最も多く検出され、その生成量は 44.8 μg で投与量の 0.56%に相当した。なお、2 日目以降は投与量の 0.1%以下であった(Table 1)。一方、PCB140 の代謝物 M1 は、投与後 2 日間に、投与量の 2.66%が検出され、PCB138 の 4.3 倍であった。

尿の分析：PCB138 未変化体およびその代謝物は、いずれも全く検出されなかった。また、PCB140 の場合にも同様に、未変化体および代謝物は検出されなかった。

血清の分析：Fig. 2 に、投与後 4 日目の血清中の未変化体と代謝物 M1 の代表的なガスクロマトグラムを、また、それらの定量結果を Table 2 に示した。その結果、PCB138 未変化体が微量 (1.67 μg/mL serum) 検出されたが、代謝物 M1 は極微量 (0.05 μg/mL serum) であった。一方、

PCB140 の場合、未変化体は PCB138 の 1.6 倍、代謝物 M1 は 4.2 倍が検出された (Table 2)。

肝臓の分析 : Table 3 に、投与後 4 日目の全肝臓中の未変化体および代謝物 M1 の定量結果を示した。その結果、PCB138 未変化体は、投与量の 3.3% が検出された。また、代謝物 M1 は投与量の 0.04% であった。一方、PCB140 の場合、未変化体は投与量の 0.39% と少なく、また、代謝物 M1 は未検出であった。

D. 考察

PCB138 をラットに単回経口投与し、未変化体および代謝物 M1 の糞尿中への排泄、さらに肝臓および血液への分布を投与後 4 日間観察し、246 型の PCB140 の結果と比較した。

PCB 異性体のうち、4 個以上の塩素が置換された PCB の *in vivo* 代謝研究によると、代謝物はほとんどすべてが糞中から検出されており、尿中では検出されていない。今回、PCB138 の *in vivo* 代謝を調べた結果、代謝物 M1 は、246 型の PCB140 と同様に、糞中のみ排泄されること、また、*in vitro* 代謝と一致して、3'-OH 体であることが明らかとなった (Fig. 3)。また、糞中の PCB138 未変化体は、2 日間で投与量の 12.5% が検出されたが、一方、PCB140 未変化体は 2 日間で、5.2% であった。この事実は、PCB138 の小腸からの吸収率が PCB140 より低いことを示唆している。一方、糞中の PCB138 の代謝物 M1 は、2 日間で、投与量の 0.62% であったが、PCB140 の代謝物 M1 は、PCB138 の約 4.3 倍 (投与量の 2.66%) 多く存在していた。この結果は、PCB138 より吸収が良い PCB140 が、肝臓においても、より多く代謝され、肝管から胆汁とともに排泄されたものと思われる。

次に、投与後 4 日目の肝臓全量中の未変化体をみると、PCB140 未変化体が投与量

の 0.4% を占めていたのに対し、PCB138 未変化体は 8.4 倍の高値 (投与量の 3.3%) を示した。この結果は、PCB138 が高残留性、すなわち肝に蓄積しやすいことを示しており、これまでの報告を支持する結果であった。

以上の結果から、PCB 代謝において、代謝されやすさは肝臓への蓄積性とよく関連していることが改めて明らかになった。

E. 結論

今回、PCB138 をラットに経口投与した結果、約 85% が小腸から吸収されること、代謝物 M1 (3'-OH 体) は糞中のみ排泄され、その総量は投与後 4 日間で、投与量のほんの 0.7% であることが明らかになった。また、PCB138 は投与後 4 日目で、肝臓に未変化体として投与量の 3.4% が残留していることが明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 太田千穂, 古賀信幸. 植物由来物質 3,5,4'-トリメトキシ-*trans*-スチルベンのラットにおける生体内変化. 中村学園研究紀要, 58, 81-88 (2026).

2. 学会発表

- 1) 太田千穂, 出口昌代, 富田希望, 釘丸 萌, 古賀信幸. ラット肝ミクロゾームによる 5,6,7-Trimethoxy flavone (567-TMF) 代謝物の化学構造に関する検討. 第 79 回日本栄養・食糧学会大会 (愛媛・名古屋大学) 令和 7 年 5 月 23-25 日.
- 2) C. Ohta, K. Sugimura, M. Kugimaru, N. Koga. Metabolism of sinensetin, a citrus peel component, by rat and guinea pig liver microsomes. IUNS-ICN 2025: International Congress of Nutrition (Paris, France), 24-29 August (2025).
- 3) 吉川奈織, 火山 稜斗, 稲次良哉, 太

田千穂, 古賀 信幸, 田中 嘉孝, 石井 祐次. ダイオキシン母体曝露による胎児の発育障害のノビレチンによる改善: 胎児成長ホルモンと母体甲状腺ホルモン低下への影響. フォーラム 2025: 衛生薬学・環境トキシコロジー (名古屋, ウィンクあいち), 2025 年 9 月 9-10 日.

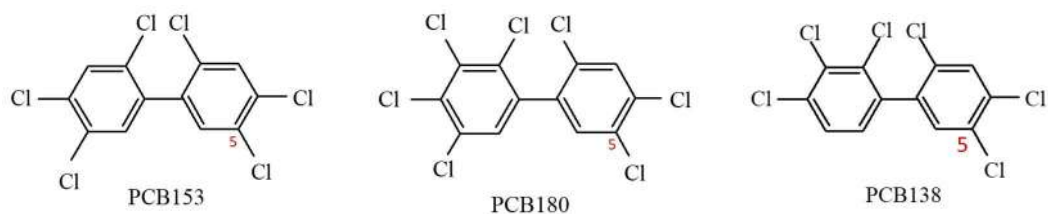
- 4) 太田千穂, 森重友里, 渋谷優子, 古賀信幸. Pinostilbene (3-methyl-resveratrol) の in vitro 代謝の動物種差およびその代謝物の抗酸化活性. 2025 年度 (公社) 日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部大会, p. 33 (沖縄・沖縄大学), 11 月 8-9 日.
- 5) 太田千穂, 木村 治, 古賀貴之, 藤井由希子, 原口浩一, 加藤善久, 古賀信幸. ラットにおける 5, 6, 7, 3', 4', 5'-Hexamethoxyflavone の生体内変化. 日本薬学会第 146 年会 (大阪・関西大学千里山キャンパス), 2026 年 3 月 26-29 日.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

な し

(A) 245-type PCB



(B) 246-type PCB

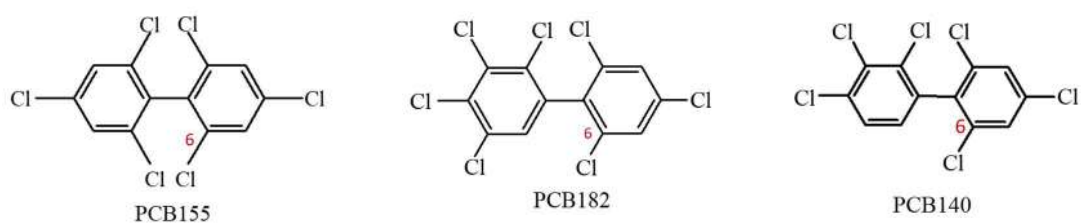


Fig. 1 Chemical structures of polychlorinated biphenyls with 2,4,5-trichloro-substituted benzene (245-type) (A) and 2,4,6-trichloro-substituted benzene (246-type) (B)

Table 1 Amount of PCB138, PCB140 and their metabolites in rat feces each day after administration of both PCB isomers

PCB isomer		Amount (μg)	
		Unchanged (% of dose)	3'-OH (M1) (% of dose)
PCB138	0-1 day	737.8 ± 149.1 (9.23)	44.8 ± 12.2 (0.56)
	1-2 day	263.6 ± 47.3 (3.27)	4.9 ± 1.0 (0.06)
	2-3 day	112.9 ± 12.6 (1.41)	2.4 ± 0.4 (0.03)
	3-4 day	55.3 ± 26.1 (0.82)	0.9 ± 0.6 (0.01)
PCB140	0-1 day	429.4 ± 74.2 (4.53)	179.6 ± 111.8 (2.10)
	1-2 day	66.9 ± 21.9 (0.70)	53.1 ± 20.8 (0.56)

Each value represents mean ± S.D. of five or six animals.

Values in parentheses represent % of dose after administration of PCB138 and PCB140.

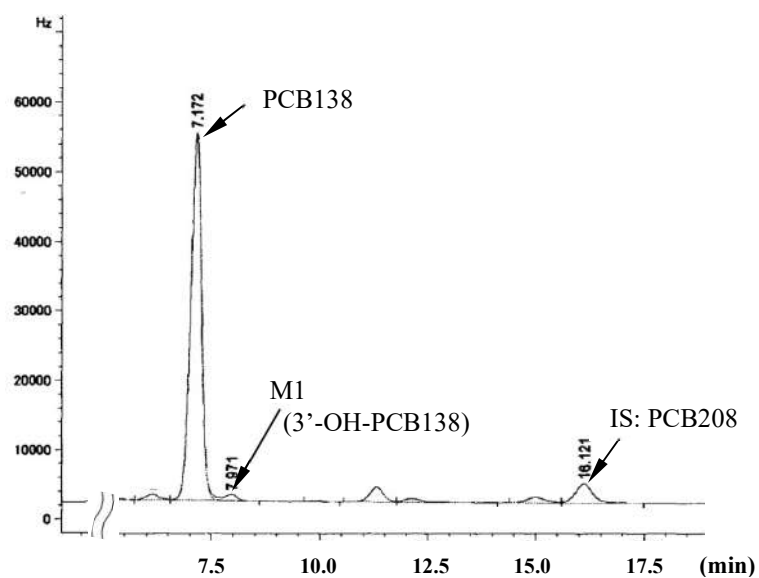


Fig. 2 GC chromatogram of PCB138 and its metabolite M1 in rat serum on day 4 after oral administration of PCB138

Table 2 Concentration of PCB138, PCB140 and their metabolite M1 in rat serum on day 4 after oral administration of both PCB isomers

Compound	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	
	Unchanged	3'-OH (M1)
PCB138	1.67 ± 0.11	0.05 ± 0.004
PCB140	2.72 ± 0.83	0.21 ± 0.37

Each value represents mean $\pm$ S.D. of five or six animals.

Table 3 Hepatic accumulation in rats of PCB138, PCB140 and their metabolite M1 on day 4 after oral administration of both PCB isomers

Compound	Total amount (µg)	
	Unchanged (% of dose)	3'-OH (M1) (% of dose)
PCB138	276.6 ± 53.7 (3.28)	3.3 ± 1.0 (0.04)
PCB140	36.4 ± 2.6 (0.39)	N. D.

Each value represents mean ± S.D. of five or six animals.

Values in parentheses represent % of dose after administration of PCB138 and PCB140.

N. D., not detected

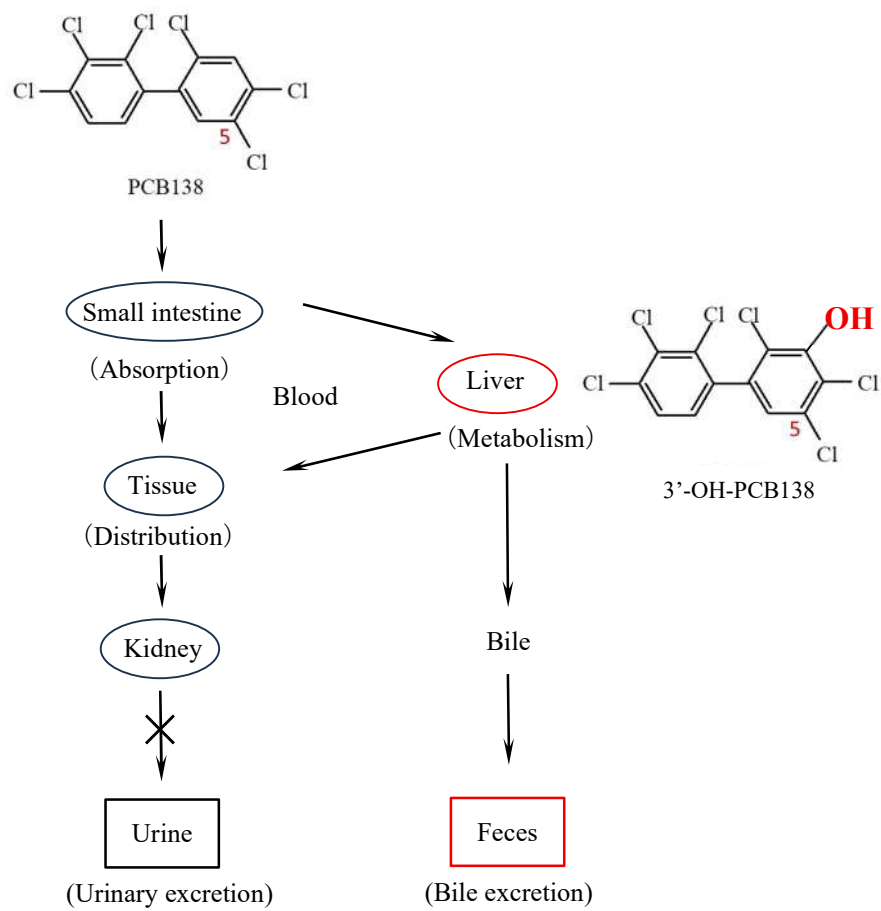


Fig. 3 Biotransformation of PCB138 in rats

ダイオキシン誘導性セレン結合性タンパク質 1 (SELENBP1): ヒト由来細胞を用いた検討

研究分担者 石井 祐次 九州大学大学院薬学研究院細胞生物薬学分野 教授

研究要旨

hSELENBP1 の 347 番目以降の C 末端領域は、hSELENBP1 の メタンチオール酸化 (MTO) 活性に必須の領域であることが知られている。本研究では、MTO 活性を制御する C 末端側領域と脂質代謝を調節する領域は区別することができ、347 番目以降のアミノ酸が欠損していても脂質代謝調節因子 PPAR α と RXR α の発現上昇作用は野生型と遜色ないことが示唆された。347 番目以降の C 末端領域は、必ずしもこれら遺伝子の発現上昇に必須ではないことが分かった。hSELENBP1 の C57S と C57A 変異では、検討した脂質代謝調節遺伝子の大部分の mRNA 発現量が野生型に比べ有意に低かった。推定セレン結合部位の 57 番目の Cys は脂質代謝調節遺伝子の発現の制御に部分的に関与しており、57 番目の Cys を Ser に置換すると抑制された。また hSELENBP1 の C5A、C8A および C80A では、野生型に比べ PPAR α mRNA 発現が有意に抑制された。5, 8, 80 番目の Cys は金属結合に関与するとされている CXXC モチーフの推定セレン結合部位である。これらの結果から hSELENBP1 が、これらの推定セレン結合部位でセレンと結合しているとすると、hSELENBP1 の脂質代謝調節機能には 57 番目の Cys および CXXC モチーフでのセレンとの結合が大きな役割を果たしている可能性がある。本研究の成果をもとに、hSELENBP1 の生理的機能の一部が解明され、油症の研究・治療、脂質代謝調節に関する基礎的、臨床的な研究に貢献することが期待される。

A. 研究目的

セレン結合性タンパク質 1 (Selenium-binding protein 1 ; SELENBP1) は、1989 年にマウス肝臓の可溶性画分から同定されたサイトゾルタンパク質であり、肝臓や腎臓、性腺や子宮、乳腺など種々の組織に発現している (1-2)。SELENBP1 は様々な機能に関与していることが示唆されているがその生理的機能は十分には解明されていない。これまでの研究で SELENBP1 の発現が、大腸がんや卵巣腫瘍、皮膚黒色腫といった腫瘍細胞で低下していることから (3-7)、セレンと SELENBP1 のがん抑制作用に関与する可能性が示唆されている (8)。さらにラット

SELENBP1 の発現が抗酸化剤によって増加すること (9) や、過酸化水素を還元して酸化障害から細胞を保護する酵素である glutathione peroxidase1 (GPX1) とヒト SELENBP1 (hSELENBP1) の発現レベルが逆相関すること (10) が報告されており、これらの知見から SELENBP1 が酸化還元制御にも関与することが示唆されている。他にも統合失調症患者では脳内における SELENBP1 の発現が増加していること (11) や、ゴルジ体を介したタンパク質輸送やユビキチン化 / 脱ユビキチン化を介したタンパク質分解経路への関与など、多岐にわたる機能への関与が示唆されている (12-13)。SELENBP1 は必須微量元

素であるセレンとの結合能を有しているが、セレノシステインを構造に持つ GPX1 や thioredoxin reductase などのセレノプロテインとは異なり、構造中にセレノシステインを含有していない点で特徴がある (14)。SELENBP1 のセレンとの結合様式は未だ解明されていないが、そのアミノ酸配列から作成された 3D モデリングによる構造解析の結果から、57 番目のシステイン (Cys) 残基は溶媒に露出しており、セレンとの結合に関与している可能性が高いと推測されている (5)。しかしこの 57 番目の Cys は hSELENBP1 にのみ認められており、マウスやラットでは Cys ではなくセリン (Ser) となっており、その詳細な結合様式は依然として明らかにされていない。一方で hSELENBP1 のアミノ酸配列にはチオレドキシシン様モチーフと呼ばれる CXXC 配列が二カ所含まれており、このモチーフは酸化還元反応に関わるタンパク質に特徴的に見られ、金属結合に関与するとされている (15)。このモチーフにより hSELENBP1 がセレンと結合しうる Cys 残基は 5, 8, 80 番目の三カ所であると推定された (16)。

近年の研究において、hSELENBP1 の cDNA 配列における 1039 番目の塩基の一塩基変異 (G1039T) により対応する 347 番目のアミノ酸であるグリシン (Gly) のコドンが終止コドンに置換 (Gly347Stop) され、347 番目以降のアミノ酸を欠失したトランケート変異 (SELENBP1 Δ 347-472) を持つ患者では口臭が発症することが報告されている (17)。これはトランケート変異によりメタンチオールオキシダーゼ (MTO) 活性を失うためである。SELENBP1 は MTO として機能し、腸内細菌叢のメチオニン γ -リアーゼによってメチオニンから産生され、口臭の原因物質とされているメタンチオールを酸化分解して、硫化水素 (H_2S) や過酸化水素 (H_2O_2)、およびホルムアルデヒド

を生成することが知られている (Fig. 2)。また hSELENBP1 の MTO 活性には、hSELENBP1 とセレンとの結合は必須ではなく、セレンは MTO 活性を適度に増加させる働きがあることが明らかにされた (16)。マウス Selenbp1 は肝臓や腎臓でよく発現しているが、これと 98% の相同性を持つ Selenbp2 が主にマウスの肝臓に存在することが知られている。Selenbp2 は、高用量のアセトアミノフェン投与時に生成される活性代謝物が結合する標的タンパク質であることから、アセトアミノフェン結合タンパク質と称されている (2)。しかし、このタンパク質がアセトアミノフェンの解毒過程に関与するのか、それとも毒性の発現に寄与するのかは、依然として明確ではない。さらに Selenbp1 および Selenbp2 は高い相同性を有することから、類似した機能を持つ可能性が示唆されている。

環境汚染物質であるダイオキシシン類とは polychlorinated dibenzo-p-dioxin (PCDD)、polychlorinated dibenzofuran (PCDF)、および polychlorinated biphenyl (PCB) のうち、平面構造を持つコプラナー PCB (モノオルト置換を含む) 異性体・同位体を総称したものであり、生体に対して有毒性を示すことが知られている。当研究室でのこれまでの研究により、高毒性ダイオキシシン類の一種である 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126)、および多環芳香族炭化水素の 3-methylcholanthrene (3MC) が、ラット肝臓の SELENBP1 タンパク質の発現を著しく誘導することが示されている (18-19)。また、最強毒性のダイオキシシンである 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) が、マウス肝臓の Selenbp1 mRNA 発現を顕著に誘導することも明らかにしている (20)。

そこで当研究室では TCDD の毒性と Selenbp1 の関与を検討するために、

Selenbp1 欠損マウスを作製し、TCDD の影響を確認した (20)。卵巣癌で発現が増強されることが知られている notch receptor 1 (Notch1) や cyclin dependent kinase 1 (Cdk1) を含む遺伝子が Selenbp1 欠損マウスの卵巣において増加していることが明らかになった。しかし肝臓におけるダイオキシン作用への Selenbp1 の寄与については不明であり、その機能が毒性の発現に関与するのか、あるいは毒性の軽減に寄与するのかはまだ解明されていない (20)。これは Selenbp1 欠損マウスでは Selenbp2 が代償的に機能しているためであると考えられる。またその後の検討で、野生型マウスを 20 時間の絶食条件下に置くと Selenbp2 の mRNA 発現量が顕著に低下することから、Selenbp1 が優先的に発現していると考えられたが、絶食後の Selenbp1 欠損マウスでは肝臓における Selenbp2 タンパク質量が高く維持されており、Selenbp2 タンパク質の安定化に関わる機構の存在も示唆されている (未発表データ)。さらに Selenbp2 がほとんど発現していない腎臓を用いたメタボローム解析により、絶食条件下の Selenbp1 欠損マウスでは、peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR α) の発現が大きく減少し、それに伴って脂質代謝関連酵素の発現低下が起こり、アラキドン酸代謝物として知られる Prostaglandin J2 (PGJ2) や 11 β -Prostaglandin F2 α (11 β -PGF2 α) などが増加することが明らかとなった。また過酸化水素レベルや活性酸素であるスーパーオキシドアニオンの不均化反応に関与する superoxide dismutase 1 (SOD1) および SOD2 活性の低下も認められている (21)。

PPAR α は核内で retinoid X receptor- α (RXR α) とヘテロ二量体を形成し、標的遺伝子の調節領域に存在する peroxisome proliferator response element (PPRE) に結合する (22)。PPAR α にリガンドが結合する

ことによりコアクチベーターの活性化が促進され、脂質代謝や炎症制御に関わる標的遺伝子の発現が活性化されることが分かっている (23, 24)。さらに当研究室では、hSELENBP1 発現プラスミドをヒト肝細胞癌由来の細胞株である HepG2 細胞にトランスフェクションすることで PPAR α や RXR α の発現量が増加し、その下流のペルオキシソームでの β 酸化に関与する acyl-CoA oxidase1 (ACOX1) や分枝脂肪酸の酸化に関与する acyl-CoA oxidase3 (ACOX3)、ミトコンドリア外膜から内膜へ長鎖脂肪酸を輸送し β 酸化に関与する carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A)、そして SOD1/2 の mRNA 発現量も増加することを明らかにした (25)。このように SELENBP1 は脂質代謝調節や活性酸素レベルの調節に関与するが、その詳しい調節機構については未だ明らかとなっていない。

そこで本研究では、PPAR α をはじめとする脂質代謝調節遺伝子を制御するドメインが hSELENBP1 のどの領域に存在するのかを探索する目的で検討を行った。hSELENBP1 の特徴的な構造である推定セレン結合部位のアミノ酸を変異させた変異体を構築し、セレン結合部位のアミノ酸変異が与える脂質代謝調節遺伝子の発現への影響を評価した。また hSELENBP1 の機能の一つである MTO 活性に必須とされる領域を欠失したトランケート変異体が与える脂質代謝調節遺伝子の発現への影響も評価した。

B. 研究方法

1. hSELENBP1 各変異体の構築

pcDNA3.1(+)-human SELENBP1-DYK プラスミドを鋳型として、site-directed mutagenesis (SDM) 法により hSELENBP1 各変異体を構築した。変異導入用プライマーは Agilent 社の設計ツールを用いて作

製した。

Human SELENBP1_C5A

Forward: 5'-
atggctacgaaagctgggaattgtggacccg-3'

Reverse: 5'-cgggtccacaattcccagctttcgtagccat-3'

Human SELENBP1_C8A

Forward: 5'-
atggctacgaaatgtgggaatgctggacccg-3'

Reverse: 5'-cgggtccagcattcccacatttcgtagccat-3'

Human SELENBP1_C57A

Forward: 5'-
ggatgacctgggcatactggggagacttgggg-3'

Reverse: 5'-
ccccaagtctccccagtatgccaggtcatcc-3'

Human SELENBP1_C57S

Forward: 5'-atgacctggctatactggggagacttgggg-3'

Reverse: 5'-ccccaagtctccccagtatagccaggtcat-3'

Human SELENBP1_C80A

Forward: 5'-
tcaggatggaacaccgccagcagctgcttcgg-3'

Reverse: 5'-
ccgaagcagctgctggcggtgtccatcctga-3'

PCR 後、Dpn I 処理産物を 1.0% アガロースゲル電気泳動により確認した。その後、DH5 α コンピテントセルに形質転換し、アンピシリン含有 LB プレート上で培養した。得られたコロニーからプラスミド DNA を精製し、Big Dye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit を用いた DNA シークエンシングにより、目的変異の導入を確認した。

2. HepG2 細胞培養と継代および処理

HepG2 細胞は 10% ウシ胎児血清 (FBS) を含む D-MEM 培地を使用して、5% CO₂、37°C の加湿インキュベーターで培養し、2~3 日に 1 回 0.25%トリプシン / EDTA で継代を行った。

6 well plate に 1 × 10⁶ cells/well 播種した。24 時間後で、試薬が含まれる培地 1 mL/well ずつ添加した(n=3)。24 時間後に、HepG2 細胞を回収した。

3. ポリエチレンイミン (PEI) を用いた トランスフェクション

細胞を 1 × 10⁶ cells/well ずつ 6 well plate に播種し、37°C、5% CO₂ で 24 時間培養後、培地を交換し、ポリエチレンイミン HCl MAX (Linear、MW40000、トランスフェクショングレード) (PEI) (Polysciences、Lnc、Warrington、PA) を使用してトランスフェクションを行った。コントロールとして、インサートを含まない pcDNA3.1 hygro(-) を使用した。

4. qRT-PCR

回収した細胞から RNeasy® Mini Kit を使用して、total RNA を抽出した。抽出後の total RNA 濃度を定量した。得られた total RNA は gDNA の除去および逆転写反応を行った。なお、逆転写反応に使用した鋳型 RNA 量は 250 ng/7.5 mL である。逆転写反応により得られた cDNA を滅菌水にて 10 倍希釈し qRT-PCR 反応を行った。

プライマーの配列と PCR 反応条件を下記に記載している。

Target mRNA; (Genbank Accession); Primer sequence; Product size

hSeBP1

Forward: 5'-TCCTCTACTTCAGCAACTGG-3' 183 bp (NM_001258288)

Reverse: 5'-GTTTTCCTTGACCACTAGG-3'

PPARA

Forward: 5'-TTCGCAATCCATCGGCGAG-3' 146 bp (NM_001001928)

Reverse: 5'-CCACAGGATAAGTCACCGAGG-3'

ACOX1

Forward:

5'-GGAAGTACCTTCGAGGCTTG-3'

164 bp (NM_001185039)

Reverse:

5'-TTCCCCTTAGTGATGAGCTGG-3'

ACOX3

Forward:

5'-CGAGCTGAACTTCCTTCGATG-3'

107 bp (NM_001101667.2)

Reverse:

5'-CCAGGCACTGAATCAAGGC-3'

CPT1A

Forward:

5'-ATCAATCGGACTCTGGAAACGG-

3' 121 bp (NM_001031847)

Reverse: 5'-TCAGGGAGTAGCGCATGGT-3'

SOD1

Forward:

5'-GGTGGGCCAAAGGATGAAGAG-3'

227 bp (NM_000454)

Reverse:

CCACAAGCCAAACGACTTCC-3'

SOD2

Forward:

GGAAGCCATCAAACGTGACTT-3'

116 bp (NM_000636)

Reverse:

CCCGTTCCTTATTGAAACCAAGC-3'

β-ACTIN

Forward:

GGCACACACCTTCTACAATG-3'

163 bp (NM_001101)

Reverse:

AGCACAGCCTGGATAGCAAC-3'

反応は StepOnePlus™ Real Time PCR System (Life Technologies, Inc.) を用いて、96wells、Quantitation-Comparative CT ($\Delta\Delta\text{CT}$)、Fast mode にて行った。反応条件は、95°C, 15 秒 - 50 サイクル× (95°C, 3 秒 - 60°C, 30 秒)とした。この反応ののち、単一の増幅産物が得られていることを確認するため、melting curve (95°C, 15 秒 - 60°C, 1 分 -0.3°C ずつ上昇し各 15 秒 - 95°C, 15 秒) を作製した。また、上記反応液から cDNA のみを除いて PCR 反応を行った場合にプライマーダイマーの形成などによるシグナル検出が行われていないことを確認した。解析は $2\Delta\text{-CT}$ 法を用いて解析した。内標準物質として $\beta\text{-actin}$ を用い、目的遺伝子の threshold cycle (CT) 値と $\beta\text{-actin}$ の CT の差 (ΔCT) から各目的遺伝子の $\beta\text{-actin}$ に対する相対的発現量を算出した。

5. タンパク質の定量

トランスフェクションから 48 時間後に細胞を PBS 1mL で洗い、1 well あたり 1 mL の PBS で細胞を回収して、5,000 rpm, 4°C で 5 分間遠心分離を行った。上清を除去した後、cOmplete™ プロテアーゼ阻害剤カクテル (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) を 50 倍希釈になるよう加えた IP buffer を 1 サンプルあたり 100 μL 加えて懸濁し、Branson Sonifier (Branson Ultrasonics, Emerson, Kanagawa) にて超音波で細胞を粉碎後 (30 秒 ON / 1 分 OFF x 10 set)、BSA を標準タンパク質として Lowry らの方法に従いタンパク質量を測定した。サンプルを 100 倍希釈して 1 mL とし、D 液を 3 mL 加え攪拌し、室温で 10 分間放置したのちに E 液を 0.3 mL 加え攪拌した後に室温で 30 分間放置した。その後、750 nm の吸光度を測定した。

IP バッファー: 20 mM Tris-HCl (pH 7.4),

150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 10% glycerol

6. Western blotting

1) SDS-PAGE

Laemmli の方法に準じて行った (26)。Laemmli の方法では、アクリルアミドを Solution I および Solution II として分離ゲルと濃縮ゲルに用いるが、Solution II をどちらのゲルにも使用した。

回収した細胞破碎液を IP buffer で適宜希釈したサンプル 15 μ L に 4 $\times$ sample buffer (0.25 M Tris-HCl buffer (pH 6.8), 8% SDS, 40% glycerol, 20% 2-mercaptoethanol, 0.008% bromophenol blue) を終濃度で 1 $\times$ sample buffer となるように 5 μ L 添加してサンプルを調製し、100°C、3 分加熱後ゲルにアプライした。なお、用いたタンパク質量は 30 μ g/well とした。電気泳動はミニスラブゲル (ATTO 社製 AE-6500 型、1 mm、6.5 $\times$ 9 cm) を用い、Running buffer (0.025 M Tris, 0.192 M glycine, 0.1% SDS; 10 $\times$ 溶液を予製し用時 10 倍希釈して使用) 中で、ゲル 1 枚あたり 10 mA の条件で行った。

2) ブロットニング

ポリアクリルアミドゲル中のタンパク質の PVDF 膜への転写は、Towbin らの方法に準じて行った (18,19)。転写には、セミドライブロットニング装置 (ATTO 社製) を用い、転写用溶媒 (0.1 M Tris, 0.192 M glycine) での湿潤下、ゲル 1 枚あたり、130 mA、20 分間の条件で行った。0.4 μ m 孔の PVDF 膜を使用し、メタノール処理後、使用するまで転写バッファーで振とうした。

3) 発光法

化学的発光は GE Healthcare の ECL (Enhanced Chemi-luminescence) 発光法に基づいて行った (ECL, GE Healthcare)。転

写後の PVDF 膜を TBS-T で洗浄し、5% スキムミルクで、室温で 1 時間振盪しブロッキングを行った。続いて 5% スキムミルクを除去し、TBS-T で、室温で振盪して 5 分 $\times$ 3 回 PVDF 膜を洗浄した。その後、一次抗体につけ、4°C でゆっくりと振盪させ一晩反応させた。使用した抗体は以下の通りで、TBS-T に 1000 倍希釈して使用した。

Mouse anti- FLAG antibody (Sigma Aldrich)
mouse anti- β -actin antibody (BioVision)

TBS-T の組成は以下の通りである。

TBS-T: 20 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5), 150 mM NaCl, 0.1% Tween20

一次抗体を除去して、TBS-T で 3 回洗浄し、さらに 15 分間振盪させた後、二次抗体につけ室温で 1 時間振盪した。使用した二次抗体はロバ由来の anti-mouse IgG (GE Healthcare, Chicago, IL, USA) で、TBS-T に 1000 倍希釈して使用した。二次抗体を除去した後、TBS-T で 3 回洗浄し、さらに 15 分間振盪させた。続いて Clarity™ Western ELC Substrate (GE Healthcare) を使用して、添付説明書通りに試薬を調整し、PVDF 膜と試薬を室温で 5 分間反応させ、ChemiDoc™ MP (BIO-RAD) を用いて化学発光法によりバンドの検出を行った。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験は、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認のもとに、動物の苦痛を可能な限り軽減して実施した。動物実験承認番号：A23-227, A24-451。遺伝子組換え実験は、「九州大学遺伝子組換え実験安全管理規則」第 10 条第 2 項の規定に基づき、委員会の承認を得て行った (承認番号: 1-8, 6-21)。

C. 研究結果

hSELENBP1 変異体タンパク質発現系の

構築

ウエスタンブロッティングの結果より、変異を導入したプラスミドをトランスフェクションした場合でも、野生型とほぼ同一で分子量約 56 kDa であった。このことから、これらの一アミノ酸変異は SDS-PAGE での挙動にほとんど影響を与えないことが分かった(Fig. 1)。この結果より、上記の方法によるトランスフェクションが翻訳の過程に影響を及ぼさず、適切なサイズの hSLEENBP1 が合成されていることを示唆する。また、 $\Delta 347-472$ トランケート変異体は約 40 kDa にバンドが検出され、C 末端側 126 アミノ酸に相当する約 16 kDa 分のペプチドが失われていることが分かった。

トランケート変異体プラスミドのトランスフェクションが脂質代謝調節遺伝子の発現に及ぼす影響

hSELENBP1 を HepG2 細胞にトランスフェクションした場合、PPAR α 、RXR α 、CPT1A、ACOX1、ACOX3、SOD1 および SOD2 の mRNA レベルが有意に上昇することが先行研究で明らかにされている(27)。野生型 hSELENBP1 プラスミドをトランスフェクションすると、空のベクターである pcDNA3.1(+) をトランスフェクションした時と比較して PPAR α や RXR α 、そしてその下流の脂質代謝調節遺伝子である CPT1A や ACOX1/3、さらに SOD1/2 の mRNA 発現の上昇が確認された(Fig. 2)。一方、hSELENBP1 とトランケート変異体を比較しても、大きな違いは認められなかった。このことから hSELENBP1 の 347 番目以降の C 末端領域は脂質代謝調節遺伝子の発現調節に必須ではないことが示唆された。

57 番目 Cys 変異体プラスミドのトランスフェクションが脂質代謝調節遺伝子に及ぼす影響

hSELENBP1 の推定立体構造から 57 番

目の Cys がセレンとの結合部位である可能性が高いとの考察がある(5)。一方でマウスやラットでは、対応するアミノ酸残基は Cys ではなく Ser である。そこで 57 番目の Cys を Ser および Ala に置換したプラスミドを用いて脂質代謝調節遺伝子の発現量を検討した。野生型 hSELENBP1 と 57 番目の Cys を Ser に変異させた hSELENBP1_C57S を比較すると、PPAR α や RXR α 、ACOX1 と SOD1 の mRNA 発現レベルが有意に低かった(Fig. 3)。しかし ACOX3 と SOD2 の mRNA 発現量では有意な変化は見られなかった。57 番目の Cys を Ala に変異させた hSELENBP1_C57A では野生型 hSELENBP1 と比較すると RXR α や CPT1A、SOD1 などの一部の脂質代謝調節遺伝子の mRNA 発現量の低下傾向があった。しかし PPAR α や ACOX1、ACOX3 や SOD2 ではほとんど変動が認められなかった。

推定セレン結合部位変異体プラスミドのトランスフェクションが脂質代謝調節遺伝子に及ぼす影響

hSELENBP1 には 57 番目の Cys のほかに、金属結合に関与するとされているチオレドキシン様モチーフがあり(15)、このモチーフのうち 5, 8, 80 番目の Cys 残基はセレンと結合すると推定された(16)。そこでこれらのアミノ酸がセレンと結合することにより、脂質代謝調節遺伝子を制御しているのではないかという仮説を立て、さらなる検討を行った。野生型 hSELENBP1 と 5 番目、8 番目、80 番目の Cys を Ala に変異させた hSELENBP1_C5A, hSELENBP1_C8A, hSELENBP1_C80A を比較すると、変異体の種類によって差はあるものの、野生型に比べ PPAR α や SOD1、SOD2 それぞれの mRNA 発現量は 3 つの変異体で有意に低下した(Fig. 4)。一方で RXR α や CPT1A、ACOX1 の mRNA 発現量は野生

型と比較して変化が認められなかった。また hSELENBP1_C80A では野生型に比べて ACOX3 の mRNA 発現量が有意低下、hSELENBP1_C5A にも低下傾向があったが、hSELENBP1_C8A には低下傾向は見られなかった。

D. 考察

HepG2 細胞に野生型 hSELENBP1 のプラスミドをトランスフェクションすると、先行研究の結果と同様に、空のプラスミドをトランスフェクションした場合と比べて、PPAR α や RXR α 、そしてその下流に存在する CPT1A などの脂質代謝調節遺伝子の mRNA の発現量の上昇が認められた。またトランケート変異体をトランスフェクションした場合は、野生型 hSELENBP1 をトランスフェクションした場合と遜色なかった。このことから、347 番目以降の C 末端領域は脂質代謝の調節作用に必須ではないことが示唆された。トランケート変異体はその一部が細胞内で凝集体を形成していること (データ未掲載) を併せて考えると、脂質代謝調節に関与するドメインの一部の凝集により機能が制限され、脂質代謝調節遺伝子の発現上昇がやや抑えられた可能性もある。このことは、347 番目以降の C 末端領域の寄与が必須でないことと合致する。

347 番目以降の C 末端領域は hSELENBP1 の MTO 活性に必須の領域であり、この領域を欠損している場合は口臭の原因物質であるメタンチオールを酸化分解することができない (17)。しかし今回の結果から MTO 活性を制御する C 末端領域と脂質代謝を調節する領域は区別することができ、347 番目以降のアミノ酸が欠損していても脂質代謝を調節する機能は保持されること示唆された。ヒト前立腺および肝由来細胞を用いた研究では、hSELENBP1 をトランスフェクションすることにより、GPX1 の活性抑制による

過酸化水素の蓄積や MTO 活性により過酸化水素の生成が示されている (10,17)。過酸化水素には AMP-activated protein kinase (AMPK) を活性化し、さらにその下流標的である peroxisome-proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α (PGC-1 α) をリン酸化し PGC-1 α の活性化を引き起こす作用が知られている (27, 28)。PGC-1 α は誘導性コアクチベーターとして PPAR α の活性化を促進することが分かっている (29)。これらの報告を基に考えると、hSELENBP1 をトランスフェクションすることで過酸化水素が蓄積し、AMPK、PGC-1 α そして PPAR α が活性化され、脂質代謝調節遺伝子の発現を誘導する機構が推定される。トランケート変異体で脂質代謝調節遺伝子の mRNA 発現に大きな影響を与えなかったのは、MTO による過酸化水素の生成が行われずとも、GPX1 の活性抑制により増加した過酸化水素が上記の推定機構で PPAR α を活性化した可能性がある。ただし、今回検討した hSELENBP1 トランケート変異体が GPX1 活性に及ぼす影響や細胞内での過酸化水素濃度の変動については今後の解析課題である。

hSELENBP1_C57S は野生型 hSELENBP1 と比べて PPAR α や RXR α をはじめ脂質代謝調節遺伝子の mRNA 発現量の上昇を有意に抑制した。また hSELENBP1_C57A では、PPAR α や ACOX1、ACOX3 や SOD2 などの一部の mRNA 発現が野生型と遜色なかったものの、RXR α や CPT1A などの脂質代謝調節遺伝子の mRNA 発現レベルには野生型 hSELENBP1 に比べ低下傾向があった。Raucci らは、アミノ酸配列相同性 39 % の *S. tokodaii* 由来のタンパク質をテンプレートに、MODELLER 9v5 を用いて hSELENBP1 の立体構造を推定した (5)。そして 57 番目の Cys が hSELENBP1 の中で電荷を有する 48 番目の Asp や

379 番目の Lys に包囲され、さらには、47 番目 Val、49 番目 Val、59 番目 Val、442 番目 Phe、444 番目 Val のような疎水性残基に囲まれていると推定した。そして 57 番目 Cys が露出していることや、最も反応性が高いことからセレン結合能を持つ可能性があり、hSELENBP1 の機能に重要であると推定している (5)。今回の検討では 57 番目の Cys は脂質代謝調節遺伝子の発現の制御に部分的に関与しており、57 番目の Cys を変化させるとその発現上昇を抑制するという結果になった。hSELENBP1_C57S では hSELENBP1_C57A と比較するとほとんどすべての遺伝子発現量がやや低い傾向にあった。これは Ser の持つヒドロキシ基が、周囲の疎水性残基が多い環境にあることで、Ser 残基が大きく露出し、本来の立体構造とは異なる構造を形成し、詳細は不明であるが hSELENBP1 の機能に抑制がかかったのではないかと考えられる。Ala は水素結合能や電荷をもたないため、変異による新たな強い相互作用をつくる可能性は低く、局所的な構造変化は起きにくいと推定される。

また一方でマウス Selenbp1/2 およびラット SELENBP1 では 57 番目のアミノ酸は Ser である。予備的検討で、HepG2 細胞にマウス Selenbp1 をトランスフェクションさせた場合、pcDNA3.1(+) をトランスフェクションした場合と比べて脂質代謝調節遺伝子の mRNA 発現は上昇している傾向が得られた (データ未記載)。この点は今後の更なる検討により明らかになると考えられるが、これを併せて考えると、ラット SELENBP1 やマウス Selenbp1/2 とは異なり、ヒト SELENBP1 では 57 番目の Cys がもつセレンとの結合性が脂質代謝調節に重要な役割を果たしており、種差がある可能性を示唆する。ただし本実験において hSELENBP1 にセレンが結合しているかは検証していない

ため、変異を導入した結果、57 番目の Cys にセレンが結合しなくなったのかどうか不明であり、今後検討していく必要があると考えられる。

5, 8, 80 番目の Cys を Ala に変異させた場合においても多くの脂質代謝調節遺伝子の mRNA 発現の上昇は抑制された。これらは、2 つのチオレドキシシン様モチーフの中にあり、マウス Selenbp1 およびラット SELENBP1 にも共通するアミノ酸である。hSELENBP1 の 3 種類の変異体のトランスフェクションにより、野生型 SELENBP1 に比べ、PPAR α や SOD1、SOD2 それぞれの mRNA 発現上昇が有意に抑制された。一方で RXR α の mRNA 発現量は変化しなかった。RXR α は、PPAR α だけでなく liver X receptor- α (LXR α) ともヘテロ二量体を作り LXR response element (LXRE) へ結合することで、sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP1c) を活性化する (Repa et al., 2000)。SREBP1c は脂肪生成遺伝子調節因子であり、これによりアシル CoA カルボキシラーゼ (ACC) の発現が増加する (Lopez et al., 1996)。ACC により合成されたマロニル CoA は CPT1A の転写活性を阻害する。PPAR α が過剰発現した場合、LXR α によって誘導される SREBP1c プロモーター活性を用量依存的に阻害することが報告されている (Yoshikawa et al., 2003)。そして 5, 8, 80 番目の Cys を Ala に変異させた場合に RXR α および CPT1A の mRNA 発現量に有意な変化はなかったことから、これら変異体は、LXR α と RXR α が LXRE に結合した後マロニル CoA が合成されるまでの経路に影響を及ぼす可能性が否めない。5, 8, 80 番目の Cys は金属結合に関与するとされているチオレドキシシン様モチーフの推定セレン結合部位である (16)。hSELENBP1 がこれらの推定セレン結合部位でセレンと結合しているとする、今

回の結果から hSELENBP1 の脂質代謝調節機能にはチオレドキシン様モチーフでのセレンとの結合が大きな役割を果たしていると考えられる。このことは、これら 2 つのモチーフが hSELENBP1 だけでなく、マウス Selenbp1 およびラット SELENBP1 のそれと合致していることから支持される。しかし本実験においても hSELENBP1 にセレンが結合しているかは検証していないため、今後検討する必要があると考える。さらに 80 番目の Cys は 141 番目の Cys とジスルフィド結合を形成して、hSELENBP1 の立体構造を安定化しているアミノ酸残基の一つであると推定されている (5)。そのため 80 番目の Cys の Ala 変異によって脂質代謝調節遺伝子の mRNA 発現量の上昇が抑制されたのは、セレンとの結合が行えなくなったためではなく、141 番目の Cys とのジスルフィド結合を形成していない立体構造へと変化したことに寄与する可能性もある。今後、141 番目の Cys の Ala 変異体でも同様に発現上昇の抑制が認められるか否か検証する必要があるだろう。本研究で得られた結果より、推定セレン結合部位、特に二カ所存在するチオレドキシン様モチーフの Cys が脂質代謝調節に関与している可能性が高いという仮説が支持された。しかし、本研究では野生型および変異型の hSELENBP1 にどの程度セレンが結合しているか、これらのアミノ酸変異がセレン結合量に及ぼす影響は検証していない。そのため、これらの Cys とセレンの結合が重要である可能性は否定しないが、アミノ酸変異による立体構造の変化こそが原因で、それにより脂質代謝調節遺伝子の発現促進作用への抑制的な影響が出ている可能性もある。これらは、今後検討する必要があると考える。また、hSELENBP1 のセレン結合部位は複数箇所推定されているが、本実験では一つの変異体につきセレン結合部位の変異箇所は

一カ所だけとした。従って、変異箇所以外の他のセレン結合部位でセレンと結合している可能性は残っており、セレン結合性を完全に失ったわけではない。そこで今後は複数のセレン結合部位を変異させた変異体を作製し、その変異体を用いた脂質代謝調節遺伝子の発現量変動の検討が望まれる。

さらに hSELENBP1 の MTO 活性にはセレンは必ずしも必要ではなく、必要なのはむしろ銅であると報告された (16)。MTO 活性に銅が必須であることから、脂質代謝調節遺伝子にも影響があるのではないかと考え、今後は推定銅結合部位のアミノ酸を変異させた変異体で検討することが望まれる。

E. 結論

以上の結果から、

1) hSELENBP1 による PPAR α など脂質代謝調節遺伝子の発現制御には、N 末端から 346 番目のアミノ酸までの領域が重要であり、hSELENBP1 の MTO 活性に必要な 347 番目以降のアミノ酸領域は必須ではないことが示唆された。

2) hSELENBP1 の 2 つのチオレドキシン様モチーフに存在する Cys 残基は、PPAR α など脂質代謝調節遺伝子の発現制御に重要である。この 2 つのチオレドキシン様モチーフは、ラットおよびマウスにも保存されており、動物種を超えて重要であると考えられる。

3) hSELENBP1 の 57 番目の Cys は、PPAR α など脂質代謝調節遺伝子の発現制御に重要であるが、このアミノ酸はラットやマウスでは保存されておらず、ヒト特異的な影響であり、SELENBP1 の種差に関係している可能性がある。

本研究成果は、hSELENBP1 の生理的機能の一部解明につながり、油症の研究・治療ならびに脂質代謝調節に関する基礎的・臨床的研究への貢献が期待される。

F. 研究発表

1. Zhao S, Song Y, Nakashima Y, Zou X, Koga T, Ishida T, Li R, Hirota Y, Tanaka Y, Ishii Y. (2025) *Int J Mol Sci*, **26**(7), 3363.
2. 日本薬学会第 145 年会 (福岡、2025 年 3 月 26 日-29 日)
3. フォーラム 2025:衛生薬学・環境トキシコロジー (名古屋、2025 年 9 月 9 日-10 日)

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

H. 参考文献

- 1) Bansal M. P., Oborn C. J., Danielson K. G. and Medina D. (1989) Evidence for two selenium-binding proteins distinct from glutathione peroxidase in mouse liver. *Carcinogenesis*, **10**: 541-546.
- 2) Lanfear J., Fleming J., Walker M. and Harrison P. (1993) Different patterns of regulation of the genes encoding the closely related 56 kDa selenium- and acetaminophen-binding proteins in normal tissues and during carcinogenesis. *Carcinogenesis*, **14**: 335-340.
- 3) Chen G., Wang H., Miller C. T., Thomas D. G., Gharib T. G., Misek D. E., Giordano T. J., Orringer M. B., Hanash S. M. and Beer D. G. (2004) Reduced selenium-binding protein 1 expression is associated with poor outcome in lung adenocarcinomas. *J. Pathol.*, **202**: 321-329.
- 4) Pohl N. M., Tong C., Fang W., Bi X., Li T. and Yang W. (2009) Transcriptional regulation and biological functions of selenium-binding protein 1 in colorectal cancer in vitro and in nude mouse xenografts. *PLoS One.*, **4**: e7774.
- 5) Raucci R., Colonna G., Guerriero E., Capone F., Accardo M., Castello G. and Costantini S. (2011) Structural and functional studies of the human selenium binding protein-1 and its involvement in hepatocellular carcinoma. *Biochim. Biophys. Acta*, **1814**: 513-522.
- 6) Zhang C., Wang Y. E., Zhang P., Liu F., Sung C. J., Steinhoff M. M., Quddus M. R. and Lawrence W. D. (2010) Progressive loss of selenium-binding protein 1 expression correlates with increasing epithelial proliferation and papillary complexity in ovarian serous borderline tumor and low-grade serous carcinoma. *Hum. Pathol.*, **41**: 255-261.
- 7) Schott M., de Jel M. M., Engelmann J. C., Renner P., Geissler E. K., Bosserhoff A. K. and Kuphal S. (2018) Selenium-binding protein 1 is down-regulated in malignant melanoma. *Oncotarget.*, **9**: 10446-10456.
- 8) Almondes K. G., Leal G. V., Cozzolino S. M., Philippi S. T. and Rondó P. H. (1992) The role of selenoproteins in cancer. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, **56**: 484-488.
- 9) Ishida T., Tasaki K., Fukuda A., Ishii Y. and Oguri K. (1998) Induction of a cytosolic 54 kDa protein in rat liver that is highly homologous to selenium-binding protein. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **6**: 249-255.
- 10) Fang W., Goldberg M. L., Pohl N. M., Bi X., Tong C., Xiong B., Koh T. J., Diamond A. M. and Yang W. (2010) Functional and physical interaction between the selenium-binding protein 1 (SBP1) and the glutathione peroxidase 1 selenoprotein. *Carcinogenesis*, **31**: 1360-1366.

- 11) Glatt S. J., Everall I. P., Kremen W. S., Corbeil J., Sasik R., Khanlou N., Han M., Liew C. C. and Tsuang M. T. (2005) Comparative gene expression analysis of blood and brain provides concurrent validation of SELENBP1 up-regulation in schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**: 15533-15538.
- 12) Porat A., Sagiv Y. and Elazar Z. (2000) A 56-kDa selenium-binding protein participates in intra-Golgi protein transport. *J. Biol. Chem.*, **275**: 14457-14465.
- 13) Jeong J. Y., Wang Y. and Sytkowski A. J. (2009) Human selenium binding protein-1 (hSP56) interacts with VDU1 in a selenium-dependent manner. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **379**: 583-588.
- 14) Bansal M. P., Mukhopadhyay T., Scott J., Cook R. G., Mukhopadhyay R. and Medina D. (1990) DNA sequencing of a mouse liver protein that binds selenium: implications for selenium's mechanism of action in cancer prevention. *Carcinogenesis*, **11**: 2071-2073.
- 15) Schild F., Kieffer-Jaquinod S., Palencia A., Cobessi D., Sarret G., Zubieta C., Jourdain A., Dumas R., Forge V., Testemale D., Bourguignon J. and Hugouvieux V. (2014) Biochemical and Biophysical Characterization of the Selenium-binding and Reducing Site in *Arabidopsis thaliana* Homologue to Mammals Selenium-binding Protein 1. *J. Biol. Chem.*, **289**: 31765-31776.
- 16) Philipp T. M., Gernoth L., Will A., Schwarz M., Ohse V. A., Kipp A. P., Steinbrenner H. and Klotz L. O. (2023) Selenium-binding protein 1 (SELENBP1) is a copper-dependent thiol oxidase. *Redox. Biol.*, **65**: 102807-102816.
- 17) Pol A., Renkema G. H., Tangerman A., Winkel E. G., Engelke U. F., Brouwer A. P. M., Lloyd K.C., Araiza R.S., van den Heuvel M., Omran H., Olbrich H., Oude Elberink M., Gilissen C., Rodenburg R. J., Sass J. O., Schwab K. O., Schäfer H., Venselaar H., Sequeira J. S., Op den Camp H. J. M. and Wevers R. A. (2018) Mutations in SELENBP1, encoding a novel human methanethiol oxidase, cause extraoral halitosis. *Nat. Genet.*, **50**: 120-129
- 18) Ishii Y, Hatsumura M, Ishida T, Ariyoshi N, Oguri K. (1996) Significant induction of a 54-kDa protein in rat liver with homologous alignment to mouse selenium binding protein by a coplanar polychlorinated biphenyl, 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl and 3-methylcholanthrene. *Toxicol Lett*, **87**: 1-9.
- 19) Ishida T, Ishii Y, Tasaki K, Ariyoshi N, Oguri K. (1997) Production of antibody against cytosolic 54kDa protein in rat liver evidence of the significant induction by a highly toxic coplanar polychlorinated biphenyl. *Fukuoka Acta Medica*, **88**: 135-143 .
- 20) Tsujimoto S., Ishida T., Takeda T., Ishii Y., Onomura Y., Tsukimori K., Takechi S., Yamaguchi T., Uchi H., Suzuki SO., Yamamoto M., Himeno M., Furue M. and Yamada H. (2013) Selenium-binding protein 1: its physiological function, dependence on aryl hydrocarbon receptors, and role in wasting syndrome by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Biochim. Biophys. Acta*, **1830**: 3616-3624.
- 21) Song Y., Kurose A., Li R., Takeda T., Onomura Y., Koga T., Mutoh J., Ishida T., Tanaka Y. and Ishii Y. (2021) Ablation of

- Selenbp1 Alters Lipid Metabolism via the Ppara Pathway in Mouse Kidney. *Int. J. Mol. Sci.*, **22**: 5334.
- 22) Bardot O., Aldridge T. C., Latruffe N. and Green S. (1993) PPAR-RXR heterodimer activates a peroxisome proliferator response element upstream of the bifunctional enzyme gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **192**: 37-45.
 - 23) Bougarne N., Weyers B., Desmet S. J., Deckers J., Ray D. W., Staels B. and Bosscher K. D. (2018) Molecular Actions of PPAR α in Lipid Metabolism and Inflammation. *Endocr. Rev.*, **39**: 760-802.
 - 24) Khuchua Z., Glukhov A. L., Strauss A. W. and Javadov S. (2018) Elucidating the Beneficial Role of PPAR Agonists in Cardiac Diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, **19**: 3464-3481.
 - 25) Zhao S., Song Y., Nakashima Y., Zou X., Koga T., Ishida T., Li R., Hirota Y., Tanaka Y. and Ishii Y. (2025) Ablation of Mouse Selenium-Binding Protein 1 and 2 Elevates LDL by Disruption of Cholesterol Efflux and Lipid Metabolism. *Int. J. Mol. Sci.*, **26**: 3363.
 - 26) Laemmli U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**: 680-685.
 - 27) Auciello F. R., Ross F. A., Ikematsu N. and Hardie D. G. (2014) Oxidative stress activates AMPK in cultured cells primarily by increasing cellular AMP and/or ADP. *FEBS Lett.*, **588**: 3361-3366.
 - 28) Jäger S., Handschin C., St-Pierre J. and Spiegelman B. M. (2007) AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α . *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**: 12017-12022.
 - 29) Huss J. M. and Kelly D. P. (2005) Mitochondrial energy metabolism in heart failure: a question of balance. *J. Clin. Invest.*, **115**: 547-555.

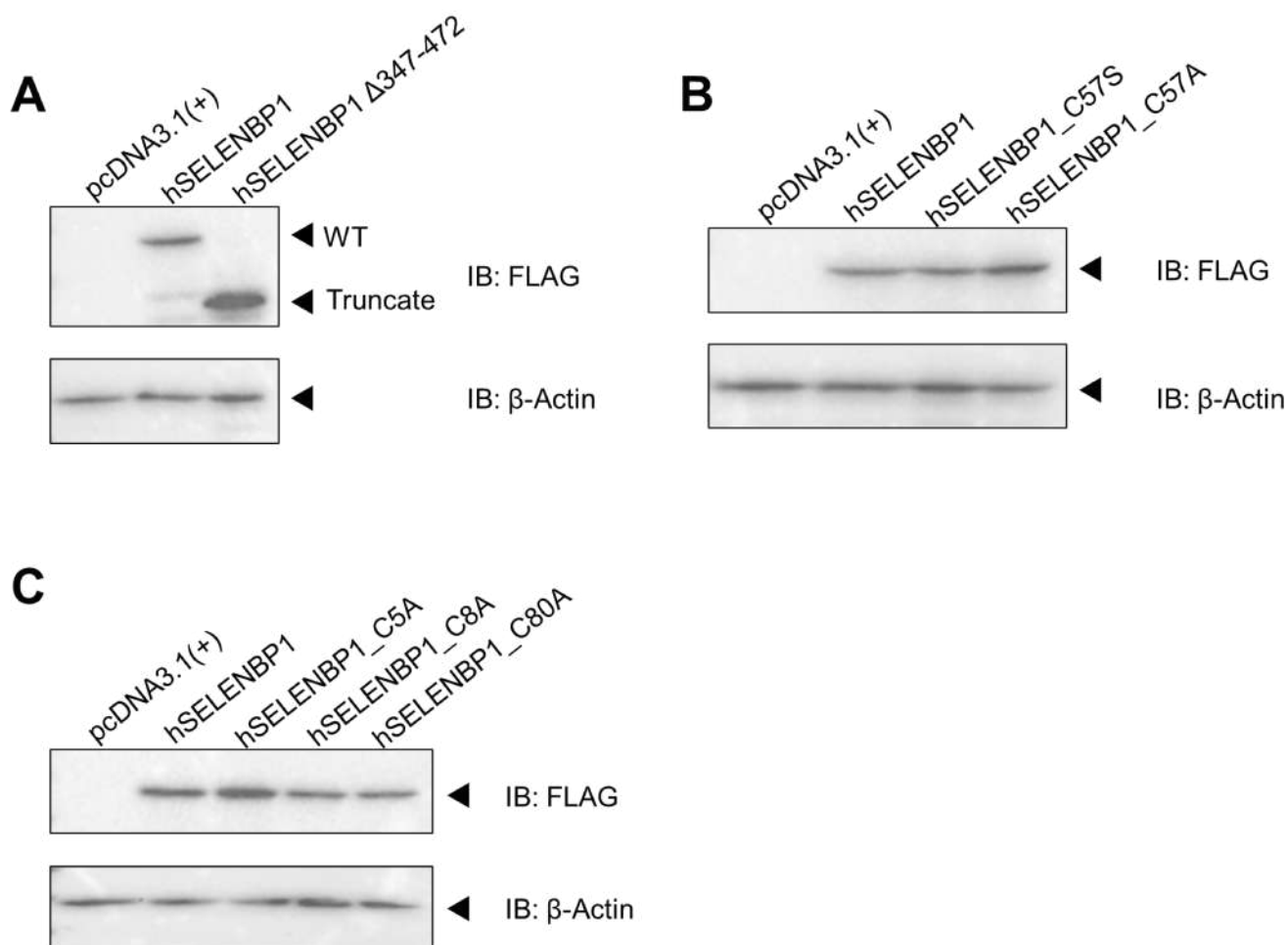


Fig. 1. Western blot analysis of human SELENBP1 and its mutants' expression in HepG2 cells. HepG2 cells were split and seeded at 1.0×10^6 cells per well in a 6 well plate. HepG2 cells were transfected with plasmids carrying human SELENBP1-DYK and its mutants by use of PEI transfection. After 48h, cells were harvested with 1 mL PBS per well and snap frozen to store in deep-freezer. HepG2 cell homogenate (20 μ g protein) was subjected to SDS-PAGE (10% separation gel). SELENBP1 and its mutants were detected by mouse anti-FLAG antibody (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) as a primary antibody. β -actin was detected by mouse anti- β -actin antibody (BioVision, Mountain View, CA).

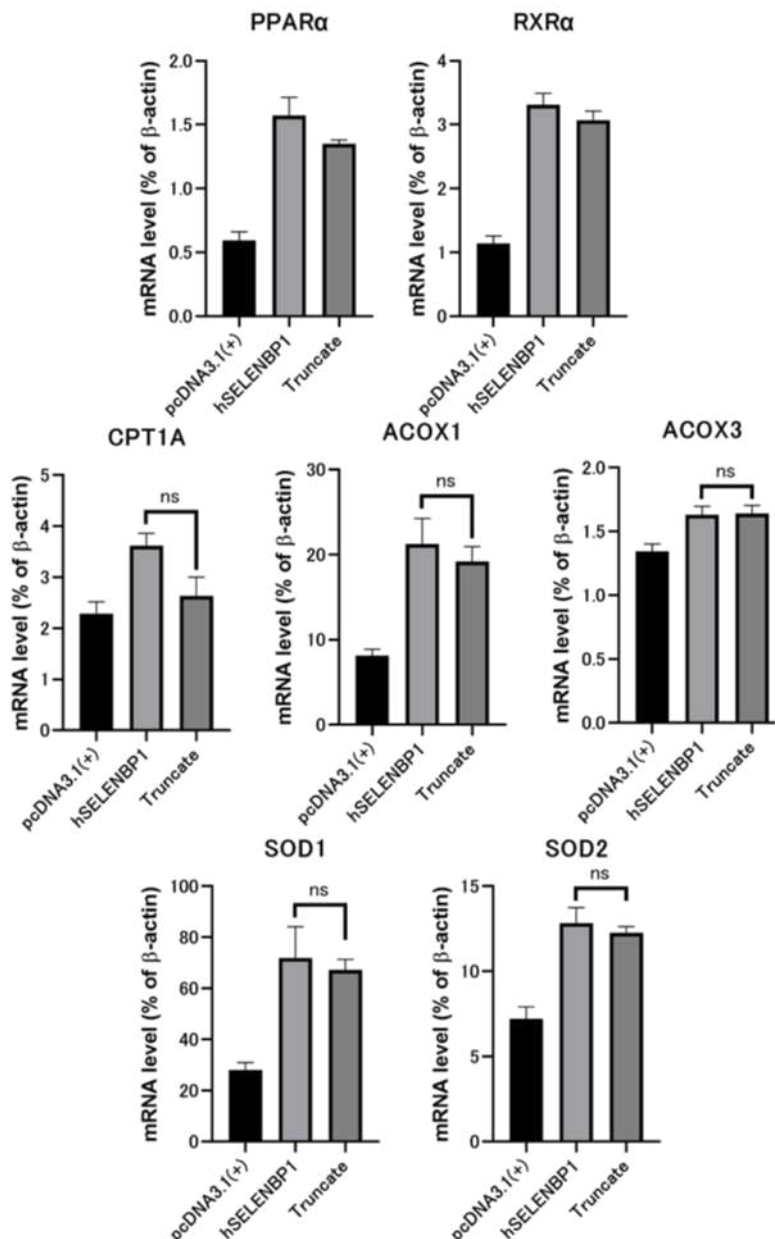


Fig. 2. Effects of transfection with human SELENBP1 and truncated mutant on the mRNA levels of PPAR α , RXR α , mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation-related genes, and antioxidant enzymes in HepG2 cells. Each bar represents the mean $\pm$ SEM for 2 or 3 samples. In case of pcDNA3.1(+), duplicated samples were used. In case of hSELENBP1 in PPAR α and RXR α , duplicated samples were used. The others were triplicated. The expression level of the target mRNA was normalized against the expression level of β -actin mRNA. Significantly difference from hSELENBP1: ns, not significant.

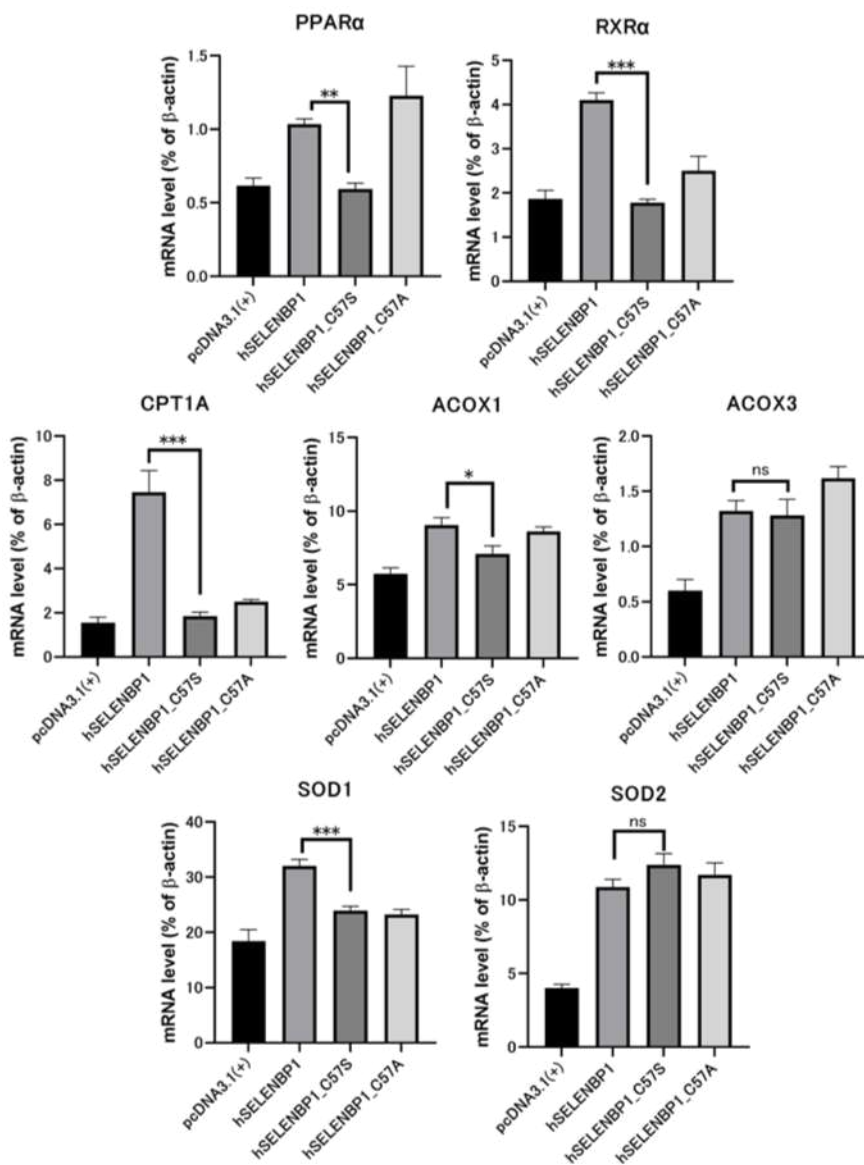


Fig. 3. Effects of transfection with human SELENBP1 and mutant which 57th Cys altered to Ser or Ala on the mRNA levels of PPAR α , RXR α , mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation-related genes, and antioxidant enzymes in HepG2 cells. Each bar represents the mean $\pm$ SEM for 2 or 3 samples. In case of pcDNA3.1(+) and hSELENBP1_C57A, duplicated samples were used. In case of hSELENBP1 and hSELENBP1_C57S, triplicated samples were used. But in case of hSELENBP1 for SOD2, duplicated samples were used. The expression level of the target mRNA was normalized against the expression level of β -actin mRNA. Significantly difference from hSELENBP1: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; ns, not significant.

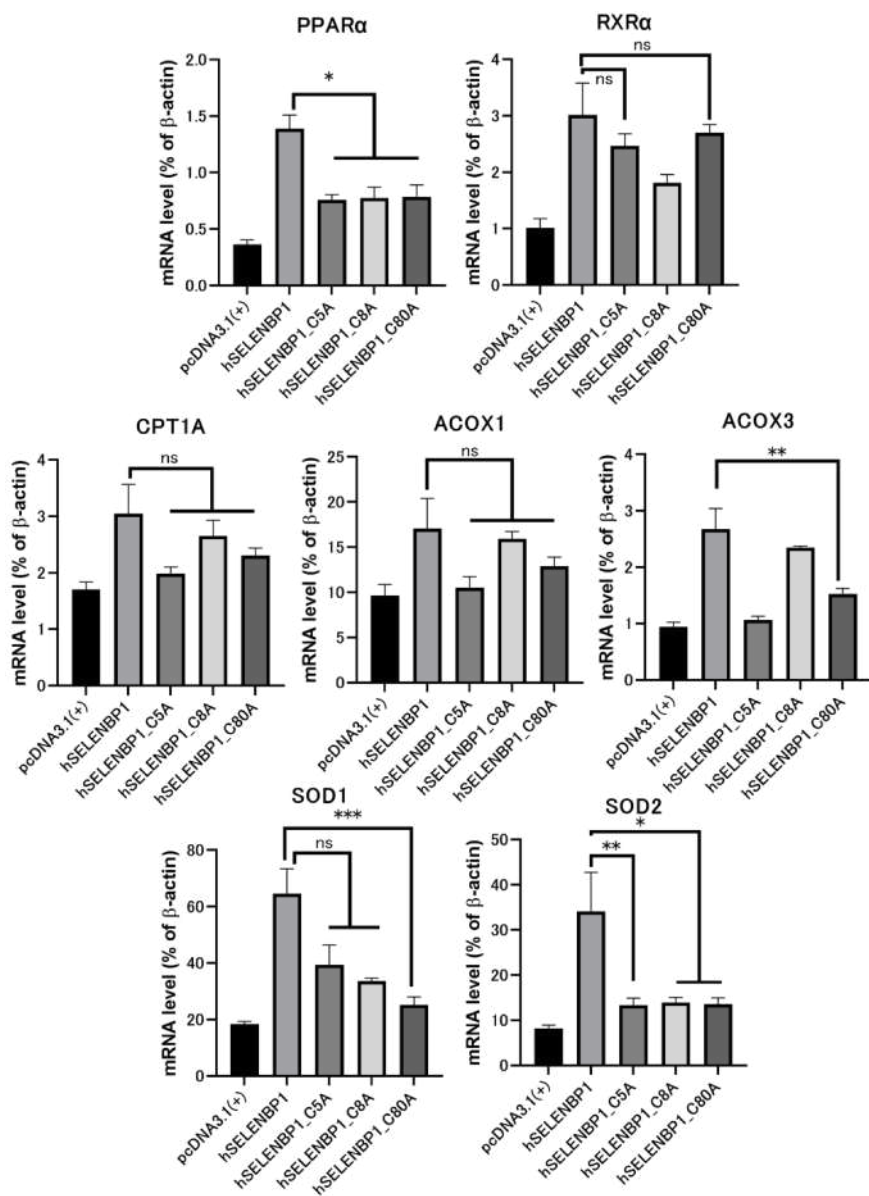


Fig. 4. Effects of transfection with human SELENBP1 and mutants which the putative selenium-binding residue altered to Ala on the mRNA levels of PPARα, RXRα, mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation-related genes, and antioxidant enzymes in HepG2 cells. Each bar represents the mean ± SEM for 2 or 3 samples. In case of pcDNA3.1(+), duplicated samples were used. The others were triplicated. But in case of hSELENBP1_C80A for RXRα, duplicated samples were used. In case of hSELENBP1_C5A and C80A for ACOX3, duplicated samples were used. The expression level of the target mRNA was normalized against the expression level of β-actin mRNA. Significantly difference from hSELENBP1: *, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001, ns, not significant.

芳香族炭化水素受容体を介した骨代謝制御機構に関する研究

研究分担者 藤原 稔史 九州大学整形外科 助教

研究要旨 AhR は骨代謝を制御する破骨細胞と骨芽細胞の分化に従い発現が増加し、ベンゾピレンはこれらの分化を阻害する。

A. 研究目的

油症被害者の高齢化に伴い、骨粗鬆症との関連が重要な課題となっている。骨は骨形成を担う骨芽細胞と骨吸収を担う破骨細胞の均衡により代謝が調節されており、このバランスの維持が骨量と骨質の保持に不可欠である。骨代謝にはエストロゲンやステロイドなどのホルモン因子や環境因子が関与している。

ダイオキシンの受容体である芳香族炭化水素受容体 (AhR) は骨芽細胞と破骨細胞の双方に発現し、細胞の増殖や分化に関与することが報告されている。In vitro では AhR 刺激により両細胞の分化が抑制または促進されるとの報告があり、見解は一致していない¹⁾²⁾。また、AhR アゴニストのタピナロフは皮膚炎症に対して抗炎症作用を示し臨床応用されている³⁾。これらを踏まえ、本研究では骨芽細胞および破骨細胞における AhR の役割と関連薬剤を検討し、新たな治療戦略の構築を目指す。

B. 研究方法

8～12 週齢の C57B1/6J マウスの長管骨を採取し、骨髓細胞を回収する。

①破骨細胞培養

骨髓細胞を M-CSF100ng/mL と 3 日間共培養し、単球系細胞 (BMM) へ誘導し、M-CSF100ng/mL と RANKL100ng/mL を共培養し、破骨細胞分化を誘導し、前破骨細胞 (pOC) から通常 4～5 日で成熟破骨細胞 (mOC) に分化する。

②骨芽細胞培養

骨髓細胞をアスコルビン酸と共培養し、2～3 週ほどかけて骨芽細胞へ培養する。

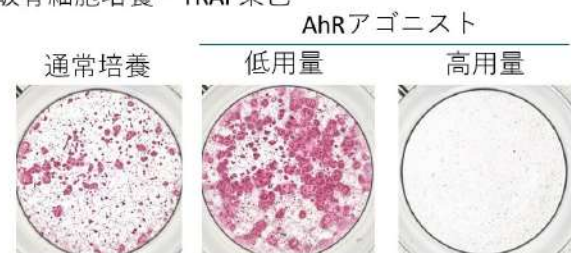
③破骨細胞と骨芽細胞に対する AhR アゴニスト刺激における影響

破骨細胞分化は TRAP 染色で評価、mRNA 発現をリアルタイム PCR で確認し、蛋白をウェスタンブロットで確認した。AhR アゴニストの影響を評価した。AhR の核内移行を免疫染色で評価した。

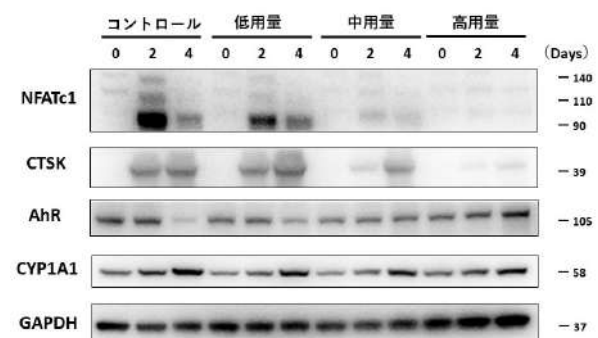
骨芽細胞はアルカリフォスファターゼ染色とアリザリンレッド染色を行った。

C. 研究結果

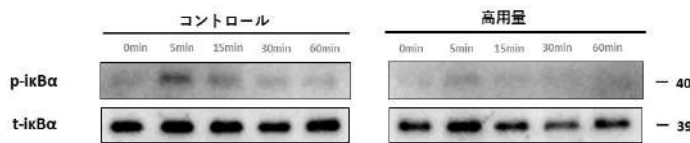
破骨細胞培養・TRAP染色



破骨細胞分化において AhR アゴニストを低用量加えると破骨細胞分化は増加傾向を示し、高用量を加えると抑制された (上図)。破骨細胞分化に関わる遺伝子の変化を下図に示す。低容量では NFATc1 と

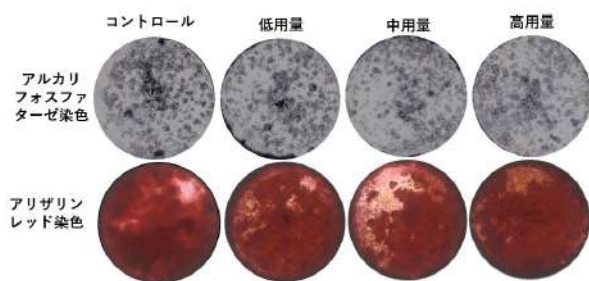


カテプシン K は高いが、中用量と高用量では低下した。



破骨細胞分化の抑制機構を調べるために、AhR アゴニストを加えて RANKL 刺激を加えた。コントロールでは NFκB シグナルは上昇しているが、AhR アゴニスト高用量では抑制されていた（上図）。

骨芽細胞は AhR アゴニストを低用量・中用量・高用量と加えても分化に影響は及ぼさなかった（上図）。



D. 考察

AhR の破骨細胞への制御機構はまだ不明な点が多い。今回使用した AhR アゴニストは高用量で破骨細胞分化を抑制したが、高用量にしても骨芽細胞分化を抑制しなかった。つまり破骨細胞のみを抑制し、骨芽細胞に影響を及ぼさない薬剤であり、今後更に *in vivo* を含めた詳細なメカニズムを調べる必要がある。新たな治療戦略の確立を目指す。

E. 結論

AhR アゴニストは破骨細胞分化を抑制し、骨芽細胞分化に影響を与えておらず、今後解析を続け、骨粗鬆症治療への応用につながる可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 引用文献

- 1) 富士純一、岩本幸英：福岡医誌 2011, ダイオキシン類と骨代謝
- 2) Park R, et. al: Cells 2020, The Role of Aryl-Hydrocarbon Receptor (AhR) in Osteoclast Differentiation and Function
- 3) Smith SH, et. al: J invest Dermatol 2017, Tapinarof is a natural AhR agonist that resolves skin inflammation in mice and humans.

分担研究報告書

油症患者における顎口腔機能について

研究分担者 川崎 五郎 長崎大学口腔顎顔面外科学分野 准教授
研究協力者 吉富 泉 諫早総合病院歯科口腔外科 医長

研究要旨 令和7年度の長崎県油症検診において歯科検診を受診した患者を対象に、特に開閉口に関する筋や顎関節などを調べ顎口腔機能に関する検討を行った。対象者は、176名であった。そのうち、疼痛や違和感など自覚症状を認める者が19名、触診により筋や関節部に疼痛を認める者が13名、クリック音やクレピタスなど顎関節部の雑音を認める者が46名であった。また、開口障害の認められる者は5名であった。いずれも症状は軽度で、咀嚼障害や摂食困難などの重い症状は認められなかった。

A. 研究目的

油症患者における口腔領域の症状として、口腔粘膜色素沈着、口腔乾燥症、顎関節症、歯周疾患などが報告されている。これまで、口腔疾患別に油症歯科検診結果に基づき検討を行ってきた。特に口腔粘膜色素沈着は、油症発症当時からみられ^{1, 2)}、現在でも油症地区においては多くみられる傾向があり、認定者および非認定者における色素沈着の発現数や、発現部位の検討を含め報告してきている。近年、油症患者の高齢化が認められ、口腔領域についても色素沈着や歯周疾患などの歯科的所見と年齢との関連について考察してきた。

日本においては国民の高齢化に伴い、摂食や嚥下に関する問題点も数多く指摘され、オーラルフレイルも問題とされている。油症地区検診における受診患者も高齢化が進んでおり口腔機能について検討していくことは重要である。

今年度は、長崎県油症健康診断において、各地域における歯科検診行い、主訴および理学的所見をもとに咀嚼機能に関する検討を行った。

B. 研究方法

令和7年度の長崎県油症検診で歯科検診を行うことのできた受診者を対象者として検討を行った。五島福江地区および五島奈留地区では3名の歯科医師が歯科検診を行い、五島玉之浦地区および長崎地区では2名の歯科医師が歯科検診を行った。

問診において、何らかの自覚症状を訴えた患者のうち、顎関節や開閉口筋に関する違和感等を訴えた者を自覚症状ありとした。

疼痛については、側頭筋、咬筋、内側翼突筋を触診し、開閉口させ痛みを訴えた者を疼痛ありとした。

雑音については、開閉口時にクリック音またはクレピタスが生じる者を雑音ありとした。診察者に明らかに聞こえない場合には、顎関節部を触診し確認した。自覚症状のみの場合でも雑音ありとした。

開口障害については、最大開口量が診察者の2横指以下で問診により口が開きにくいとした者を開口障害ありとした。また、開口時に下顎の偏位のみられるものを偏位ありとした。

(倫理面への配慮)

本研究の解析結果においては、個人が特定できるようなデータは存在しない。

C. 研究結果

2025 年度長崎県油症検診の全受診者のうち、歯科を受診した患者は、長崎地区 69 名、玉之浦地区 35 名、奈留地区 44 名、福江地区 28 名の計 176 名であった。

患者の性別は、男性 95 名女性 81 名で、年齢分布は 17 歳から 93 歳で、平均年齢は 66.7 歳であった。

自覚症状の訴えのあった者は 19 名であった。

関節や筋に疼痛を認めた者は 10 名で、その部位は、顎関節部 5 名、側頭筋部 4 名および咬筋部 1 名であった。

顎関節に雑音の認められた者は 46 名であった。クリック音が 43 名、クレピタスが 5 名であった。そのうち 2 名には両方を認めた。

開口制限のある者は 5 名であったが、程度は軽く、食事や会話に対しては支障のない程度であった。

開口時下顎の偏位のある者は 17 名であった。

残存歯数は、智歯が確認できたものを本数に含めて、上顎が 0 本から 16 本 (平均 10 本)、下顎が 0 本から 16 本 (平均 11 本) であった。残存指数と年齢には相関性が認められたが、自覚症状やその他の症状との関連性は認められなかった。

地域別では、長崎 (69 名中、自覚症状 13 名、疼痛 6 名、雑音 24 名)、玉之浦 (35 名中、自覚症状 2 名、疼痛 0 名、雑音 3 名)、奈留地区 (44 名中、自覚症状 3 名、疼痛 4 名、雑音 9 名)、福江地区 (28 名中、自覚症状 1 名、疼痛 0 名、雑音 10 名) と、特に自覚症状については都市部である長崎地区に多い傾向が認められた。

D. 考察

顎関節や咀嚼筋の疼痛、関節雑音、開口障害ないし顎運動異常を主要症候とする慢性疾患群の総括的診断名が顎関節症であり、その症候以外にも頭痛、肩こり、耳鳴りなどの近接領域の随伴症状や全身的なさまざまな障害をも含めた症候群が顎機能障害として取り扱われている。

文献などに基づく顎関節症の疫学調査では、臨床症状を訴えていない一般集団でも、40–75%が関節雑音や下顎運動制限などの他覚的症状、28–33%が顔面痛や顎関節痛などの自覚症状があるとされている。別の調査では、一般集団において開口障害がみられるものは 5%未満であり、関節雑音の発症率は変動性が大きく疫学的検討は困難であるとされている。今回は、顎口腔機能を調べる目的で咀嚼に関する機能を調査したが、結果的には顎関節機能に関する調査と重複している部分が多い。今回の結果では自覚症状を訴えた患者は 10%を超えており、その中での関節雑音や疼痛は概ね一般集団での疫学調査と同様であった。顎関節症状は若年者にも多くみられ、今回も調査結果では、年齢との関係は明確ではなかった。また、認定の有無との相関も認めなかった。

一方、オーラルフレイルは、咀嚼、摂食、嚥下および会話といった些細な衰えのことであり、口の機能が健常な状態と口の機能低下との間にある状態である。オーラルフレイルを、歯科医療専門職が不在の場でも評価を可能とすべく、「Oral frailty 5-item Checklist: OF-5」を開発されている。この 5 項目は「残存歯数の減少」「咀嚼困難感」「嚥下困難感」「口腔乾燥感」「滑舌低下 (舌口唇運動機能の低下)」とし、このうち 2 つ以上該当の場合にオーラルフレイルと定義するとされている。今回は、この 5 項目を全て調べたわけではないが、少なくとも咀嚼困難感、嚥下困難感、滑舌低下を訴える患者は認められなかった。残存歯数については、年齢とともに減少する傾向を認めた。また、口腔乾燥に

については、今回は調査の対象としなかったが、以前口腔乾燥について調べた結果では、加齢とともに口腔乾燥が増加する傾向を認めていた。

今回の検診結果では、検診受診者については、オーラルフレイルにつながるような結果は得られなかったが、油症地区の患者の高齢化は進行しており、今後は、この 5 項目について詳細に調べる必要があると思われる。

E. 結論

令和 7 年度の長崎県油症検診における顎口腔機能について検討した。疼痛や関節雑音を認める患者は一定数認められたが、顎口腔機能の低下につながるような結果は認められなかった。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし

H. 参考文献

- 1) Aono, M., & Okada, H. Oral findings in Yusho. Fukuoka Acta Medica, 60: 468- 470, 1969.
- 2) Fukuyama, H., Hidaka, Y., & Sano, S. Relation between blood PCB level and oral pigmentation in Yusho patients. Fukuoka Acta Medica, 68: 128- 132, 1977.

Tenascin C がヒト歯根膜細胞の骨/セメント芽細胞様分化に及ぼす影響

研究分担者 前田 英史 九州大学歯科保存学研究分野 教授

研究協力者 杉井 英樹 九州大学歯科保存学研究分野 助教

研究要旨 Tenascin-C はヒト歯根膜細胞の骨/セメント芽細胞様分化を促進する。

A. 研究目的

歯周組織は歯を支持する上で重要な組織であるが、油症患者では、歯周組織の破壊によって生じる歯周ポケットが深化する可能性があることが報告されている。したがって、油症患者の歯を長期にわたり維持するためには、歯槽骨、セメント質および歯根膜から構成される歯周組織の破壊機構を明らかにし、破壊された歯周組織を再生することが重要であると考えられる。組織再生において幹細胞は重要な役割を担っており、歯根膜細胞(PDLC)には歯根膜幹細胞が含まれており、骨芽細胞またはセメント芽細胞への分化能を有し、歯周組織再生に寄与すると言われている。

芳香族炭化水素受容体(AhR)はダイオキシンの受容体で、その活性化により活性酸素を産生することで、油症の症状惹起に関与するとされている。私たちはこれまでに、AhRに結合することが知られるベンゾピレン(BaP)によってAhRシグナルを活性化したヒト歯根膜細胞(BaP-HPDLC)と、活性化していないヒト歯根膜細胞(Cont-HPDLC)を用いて、マイクロアレイ解析を行った。その結果、BaP-HPDLCにおいて、細胞外マトリックスの1種で、組織の創傷治癒に関与することが知られているTenascin-C(TNC)の発現が抑制された。さらに、TNCを発現抑制したヒト歯根膜細胞(HPDLC)において、骨/セメント芽細胞様分化が低下することが明らかとなった。

しかしながら、外因性のTNCがHPDLCの骨/セメント芽細胞様分化に及ぼす影響は明らかにされていない。

そこで本研究では、TNCのリコンビナントタンパク質(rhTNC)を用いて、HPDLCの骨/セメント芽細胞様分化に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

0.1 µg/mL および 1 µg/mL の rhTNC を用いて、HPDLC の石灰化能に及ぼす影響を、Alizarin red S 染色法を用いて解析した。さらに、骨関連因子である *Bone sialoprotein (BSP)*, *Osteocalcin (OCN)*, *Osteopontin (OPN)* および *Osterix (OSX)* の遺伝子発現、およびセメント質関連因子である *Cementum attachment protein (CAP)* および *Cementum protein 1 (CEMP1)* の遺伝子発現に及ぼす影響を、定量的 RT-PCR 法を用いて解析した。

統計学的解析には one-way ANOVA (一元配置分散分析) を用いて、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

(倫理面への配慮)

HPDLC の使用は、九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会へ申請を行ったのち、承認を得ている。またインフォームドコンセントを行い、患者からの同意を得たうえで実験に使用している。細胞には匿名加工化を行い、本人特定を不可としている。

C. 研究結果

0.1 $\mu\text{g/mL}$ および 1 $\mu\text{g/mL}$ の rhTNC を添加した HPDLC において、石灰化(図 1)、ならびに *BSP*, *OCN*, *OPN* および *OSX* の遺伝子発現(図 2)が、rhTNC 非添加の HPDLC と比較して有意に亢進した。同様に、rhTNC 添加の HPDLC において、セメント質関連因子である *CAP* および *CEMP1* の遺伝子発現が、非添加の HPDLC と比較して、有意に上昇した(図 3)。

D. 考察

rhTNC の添加によって、HPDLC の骨/セメント芽細胞様分化が促進されることが示唆された。したがって、TNC は油症患者の歯周組織の改善に影響を与える可能性が推察された。

E. 結論

TNC はヒト歯根膜細胞の骨/セメント芽細胞様分化を促進する。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当無し。

2. 学会発表

杉井英樹、Bara Mardini、添野芹奈、橘涼介、Ömer Tarik Özdemir、那須佳音、Mhd Safwan Albougha、前田英史．
Tenascin-C がヒト歯根膜細胞の骨/セメント芽細胞様分化に及ぼす影響．第 164 回日本歯科保存学会春季学術大会．
2026 年 6 月 4 日～5 日（発表予定）

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当無し。

2. 実用新案登録

該当無し。

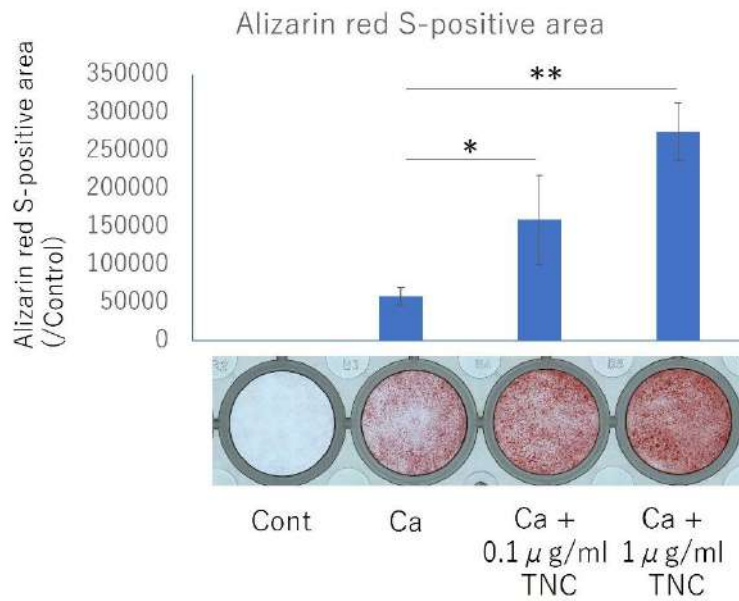


図1. rhTNC が HPDLC の石灰化に及ぼす影響

HPDLC は、 α MEM/10%FBS にて培養した群 (Cont)、1.5 mM の CaCl_2 (Ca)を添加した群、Ca に 0.1 $\mu\text{g/ml}$ または 1 $\mu\text{g/ml}$ の rhTNC を加えた群の 4 群に分けて、2 週間培養した。培養後、Alizarin red S 染色を行い、Alizarin red S 陽性領域の定量化を行った。n=3, * p < 0.05, ** p < 0.01。

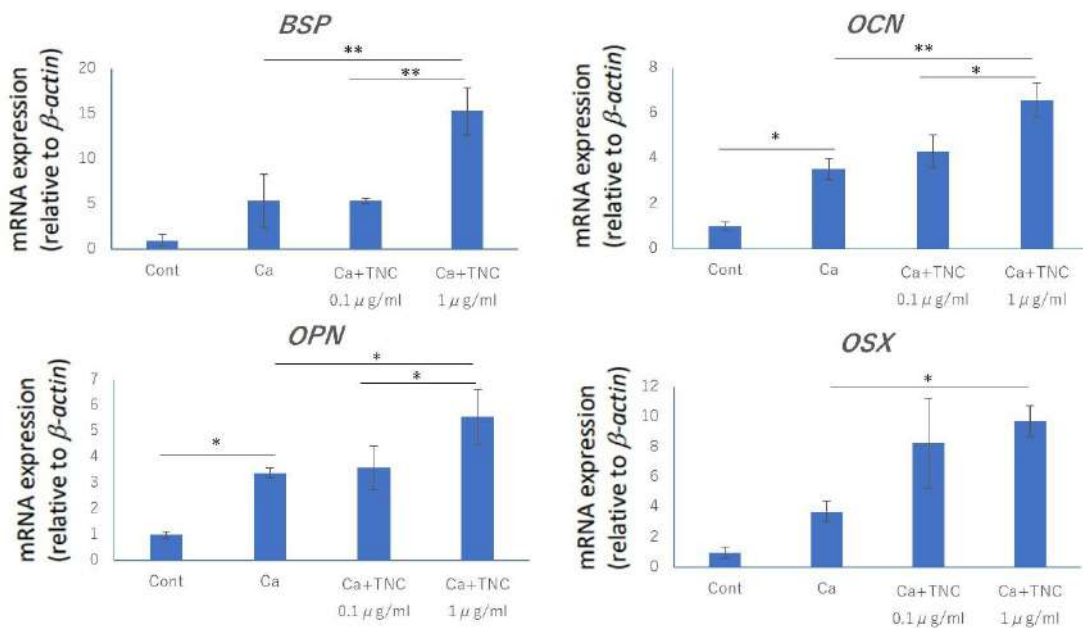


図2. rhTNCがHPDLCの骨関連因子の遺伝子発現に及ぼす影響

HPDLCは、 α MEM/10%FBSにて培養した群 (Cont)、1.5 mMのCaCl₂ (Ca)を添加した群、Caに0.1 μ g/mlまたは1 μ g/mlのrhTNCを加えた群の4群に分けて、2週間培養した。培養後、定量的RT-PCR法を用いて、骨関連因子である *Bone sialoprotein* (BSP), *Osteocalcin* (OCN), *Osteopontin* (OPN)および *Osterix* (OSX)の遺伝子発現を解析した。n=3, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

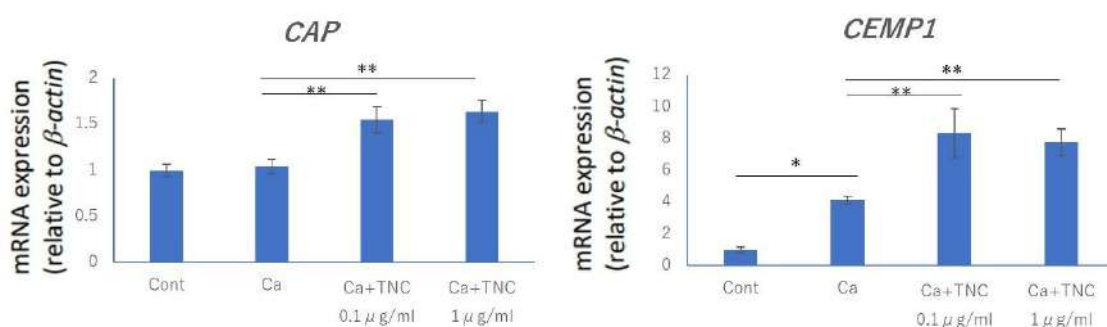


図3. rhTNCがHPDLCのセメント質関連因子の遺伝子発現に及ぼす影響

HPDLCは、 α MEM/10%FBSにて培養した群 (Cont)、1.5 mMのCaCl₂ (Ca)を添加した群、Caに0.1 μ g/mlまたは1 μ g/mlのrhTNCを加えた群の4群に分けて、2週間培養した。培養後、定量的RT-PCR法を用いて、セメント質関連因子である *Cementum attachment protein* (CAP)および *Cementum protein 1* (CEMP1)の遺伝子発現を解析した。n=3, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

分担研究報告書

ダイオキシン類による MMP12 発現上昇と間葉—上皮転換に関する研究に関する研究

研究分担者 友清 淳 北海道大学歯科保存学教室 教授

研究要旨 ダイオキシン類による AhR シグナルの活性化が、MMP12 発現を上昇させるとともに歯根膜細胞の上皮細胞転換を誘導する可能性が明らかとなった。

A. 研究目的

分担者らは先行研究にて、ダイオキシン類がヒト歯根膜細胞の AhR シグナルを活性化し、MMP1 および MMP12 の発現を上昇させる一方、COL1 発現を減少させることを明らかにしてきた。しかしながら、MMP12 の発現上昇が歯周組織に対してどのような影響を及ぼすかについては明らかとなっていない。そこで本研究では、MMP12 発現上昇が歯根膜細胞に与える影響について検証することとした。

B. 研究方法

ダイオキシン類である Benzo(a)pyrene (BaP) 存在下または非存在下にて7日間培養したヒト歯根膜細胞から mRNA を抽出したのち、逆転写酵素等を用いて cDNA を合成した。それらを用いて Microarray 法を行い、BaP の存在下および非存在下におけるヒト歯根膜細胞の遺伝子発現を網羅的に解析した。次に、それらの結果を Cxpresdb や RefEx などのデータベースを用いて検証した。

(倫理面への配慮)

ヒト歯根膜細胞の使用は、九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会へ申請を行ったのち、承認を得ている。またインフォームドコンセントを行い、患者からの同意を得たうえで実験に使用している。細胞には匿名化を行い、本人特定を不可としている。

C. 研究結果

分担者らの先行研究結果と同様に、Gene Mania および Cxpresdb での解析においても MMP1 と MMP12 の高い関連性が確認された。また RefEx での解析により、MMP12 発現は歯根膜細胞や歯肉線維芽細胞のような間葉系細胞では発現量が極めて低いのにに対し、マラッセの上皮遺残細胞や歯肉上皮細胞のような上皮系細胞では発現量が多いことが明らかとなった。またラット免疫染色の結果からも、MMP12 は歯肉上皮に強く発現することが確認された(図 1)。Microarray 解析の結果、BaP 添加群では上皮系の遺伝子が多数上昇していたのに対し、間葉系の遺伝子発現が減少していた。さらに上皮間葉転換に関与する遺伝子発現が減少したのに対し、間葉上皮転換に関与する遺伝子発現が上昇した。

D. 考察

歯周組織において、MMP12 は間葉系組織よりも上皮系組織において高発現する。したがって、ダイオキシン類がヒト歯根膜細胞の MMP12 発現を上昇させたこと、および複数の上皮系遺伝子発現を上昇させたという結果から、ダイオキシン類が歯根膜細胞の間葉上皮転換を誘導し、恒常性を変容させている可能性が推察された。

E. 結論

Benzo(a)pyrene はヒト歯根膜細胞の MMP12 発現、上皮系遺伝子発現、および間

葉上皮転換に関与する遺伝子発現を上昇させ、間葉系遺伝子発現および上皮間葉転換に関与する遺伝子発現を減少させる。

F．研究発表

1．論文発表

該当無し

2．学会発表

該当無し

G．知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

該当無し

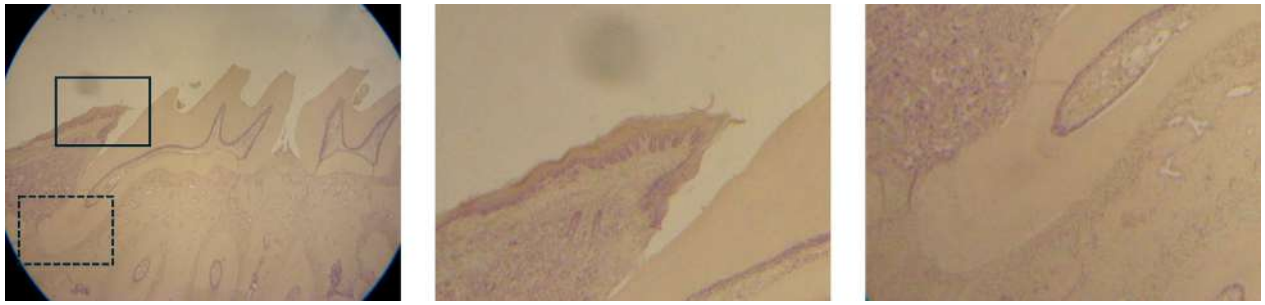


図1:ラット歯周組織における抗 MMP12 抗体を用いた免疫組織化学的染色像。

左:ラット歯周組織全体像、中:黒線の拡大像、右:黒点線の拡大像。上皮系組織である歯肉上皮には強い陽性反応が認められるが、間葉系組織である歯槽骨、歯根膜、歯髄には陽性反応は認められなかった。

ダイオキシン類による MMP12 発現上昇と間葉—上皮転換に関する研究に関する研究

研究分担者 友清 淳 北海道大学歯科保存学教室 教授

研究要旨 ダイオキシン類による AhR シグナルの活性化が、MMP12 発現を上昇させるとともに歯根膜細胞の上皮細胞転換を誘導する可能性が明らかとなった。

A. 研究目的

分担者らは先行研究にて、ダイオキシン類がヒト歯根膜細胞の AhR シグナルを活性化し、MMP1 および MMP12 の発現を上昇させる一方、COL1 発現を減少させることを明らかにしてきた。しかしながら、MMP12 の発現上昇が歯周組織に対してどのような影響を及ぼすかについては明らかとなっていない。そこで本研究では、MMP12 発現上昇が歯根膜細胞に与える影響について検証することとした。

B. 研究方法

ダイオキシン類である Benzo(a)pyrene (BaP) 存在下または非存在下にて7日間培養したヒト歯根膜細胞から mRNA を抽出したのち、逆転写酵素等を用いて cDNA を合成した。それらを用いて Microarray 法を行い、BaP の存在下および非存在下におけるヒト歯根膜細胞の遺伝子発現を網羅的に解析した。次に、それらの結果を Cxpresdb や RefEx などのデータベースを用いて検証した。

(倫理面への配慮)

ヒト歯根膜細胞の使用は、九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会へ申請を行ったのち、承認を得ている。またインフォームドコンセントを行い、患者からの同意を得たうえで実験に使用している。細胞には匿名化を行い、本人特定を不可としている。

C. 研究結果

分担者らの先行研究結果と同様に、Gene Mania および Cxpresdb での解析においても MMP1 と MMP12 の高い関連性が確認された。また RefEx での解析により、MMP12 発現は歯根膜細胞や歯肉線維芽細胞のような間葉系細胞では発現量が極めて低いのにに対し、マラッセの上皮遺残細胞や歯肉上皮細胞のような上皮系細胞では発現量が多いことが明らかとなった。またラット免疫染色の結果からも、MMP12 は歯肉上皮に強く発現することが確認された(図 1)。Microarray 解析の結果、BaP 添加群では上皮系の遺伝子が多数上昇していたのに対し、間葉系の遺伝子発現が減少していた。さらに上皮間葉転換に関与する遺伝子発現が減少したのに対し、間葉上皮転換に関与する遺伝子発現が上昇した。

D. 考察

歯周組織において、MMP12 は間葉系組織よりも上皮系組織において高発現する。したがって、ダイオキシン類がヒト歯根膜細胞の MMP12 発現を上昇させたこと、および複数の上皮系遺伝子発現を上昇させたという結果から、ダイオキシン類が歯根膜細胞の間葉上皮転換を誘導し、恒常性を変容させている可能性が推察された。

E. 結論

Benzo(a)pyrene はヒト歯根膜細胞の MMP12 発現、上皮系遺伝子発現、および間

葉上皮転換に関与する遺伝子発現を上昇させ、間葉系遺伝子発現および上皮間葉転換に関与する遺伝子発現を減少させる。

F．研究発表

1．論文発表

該当無し

2．学会発表

該当無し

G．知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

該当無し

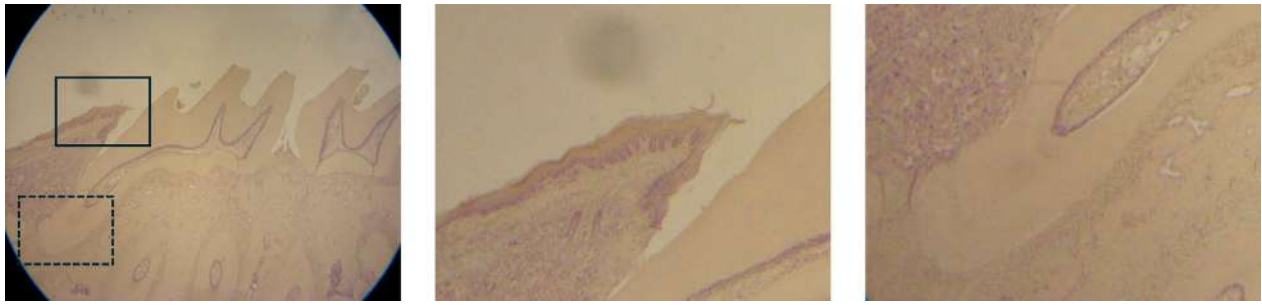


図1:ラット歯周組織における抗 MMP12 抗体を用いた免疫組織化学的染色像。
左:ラット歯周組織全体像、中:黒線の拡大像、右:黒点線の拡大像。上皮系組織である歯肉上皮には強い陽性反応が認められるが、間葉系組織である歯槽骨、歯根膜、歯髄には陽性反応は認められなかった。

厚生労働科学研究費の補助を受けたことが明記された書籍・雑誌

書籍：著者氏名，論文タイトル名，書籍全体の編集者名，書籍名，出版社名，出版地，出版年，ページ
【厚生労働科学研究費により刊行】 なし

雑誌：発表者氏名，論文タイトル名，発表誌名，巻号，ページ，出版年，
【厚生労働科学研究費により刊行】 福永貴之，柳原理久，房野良樹，申 敏哲．行動量計と分子生物学的手法を用いたベンゾピレン中毒ラットに対する a 5-deazaflavin derivative の効果検討．熊本保健科学大学研究誌. 23：21－29. 2026. 小牧龍二，竹本華愛，赤木野乃佳，福永貴之，柳原理久，房野良樹，鄭 英美，申 敏哲．舌への体性感覚刺激が ADHD モデルラットに及ぼす影響．熊本保健科学大学研究誌. 23：11－20. 2026. 平川周作、油症患者の PCB 蓄積特性と <i>in silico</i> による CYP を介した代謝予測．日本内分泌攪乱物質学会 ENDOCRINE DISRUPTER NEWS LETTER、2025. 28(2)．10. Xing Zou, Ming Yuan, Tomoki Takeda, Takayuki Koga, Yoshitaka Tanaka, Yuji Ishii, Prevention of prolactin reduction: a novel strategy countering multi-generational growth retardation caused by maternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. <i>The Journal of Toxicological Sciences</i> 50(11): 601-615, 2025 Shuangli Zhao, Yingxia Song, Yuko Nakashima, Xing Zou, Takayuki Koga, Takumi Ishida, Renshi Li, Yuko Hirota, Yoshitaka Tanaka, Yuji Ishii, Ablation of mouse selenium-binding protein 1 and 2 elevates LDL by disruption of cholesterol efflux and lipid metabolism. <i>International Journal of Molecular Sciences</i> 26: 3363-3363, 2025 Tsuji G, Yumine A, Takemura M, Nakahara T. Difamilast induces human beta defensin 3 production via CREB and NRF2 in human keratinocytes. <i>J Dermatol Sci.</i> 2025 Sep;119(3):135-138.